

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Verônica Maria de Oliveira

**Variabilidade morfológica de *Laeonereis* (Hartman, 1945)
(Polychaeta: Nereididae) ao longo do Atlântico Ocidental**

CURITIBA
2009

Verônica Maria de Oliveira

**Variabilidade morfológica de *Laeonereis* (Hartman, 1945)
(Polychaeta: Nereididae) ao longo do atlântico Ocidental**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Área de concentração Zoologia.

Orientador:
Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

CURITIBA
2009

Oliveira, Verônica Maria de

Variabilidade morfológica de *Laeonereis* (Hartman, 1945) (Polychaeta: Nereididae) ao longo do atlântico Ocidental. /O48 Verônica Maria de Oliveira – Curitiba, 2009.

51f.: il. (algumas color.); 29 cm.

Orientador: Paulo da Cunha Lana

Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

1. Variabilidade morfológica. 2. *Laeonereis culveri* – *Laeonereis acuta*. Título I. Lana, Paulo da Cunha.

CDD 635.9

CDU 631.811.98

Termo de aprovação

**VARIABILIDADE MORFOLÓGICA DE *LAEMONEREIS*
HARTMAN, 1945 (POLYCHAETA: NEREIDIDAE) AO LONGO
DO ATLÂNTICO OCIDENTAL.**

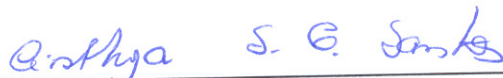
por

Verônica Maria de Oliveira

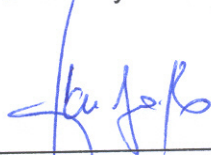
Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Zoologia, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores



Dr. Paulo da Cunha Lana - UFPR
Presidente e Orientador



Dra. Cinthya Simone Gomes Santos - UFF



Dr. Claudio José Barros de Carvalho - UFPR

Curitiba, 26 de fevereiro de 2009.

In Memoriam:

Gabriel Nélo de Oliveira (meu pai), Maria Cilene de Oliveira Cachina (minha irmã) e Klayton José de Oliveira Cachina (meu primeiro sobrinho)... Hoje, são luzes a guiarem o meu caminho.

“Para o que é eterno, o tempo não existe” Pedro Calil Padis.

A língua portuguesa não é fácil. Não é maleável. E, como não fora profundamente trabalhada pelo pensamento, a sua tendência é a de não ter sutilezas e de reagir às vezes com um pontapé contra os que temerariamente ousam transformá-la numa linguagem de sentimento e de alerta. E de amor. A língua portuguesa é um verdadeiro desafio para quem escreve. Sobretudo para quem escreve tirando das coisas e das pessoas a primeira capa de superficialismo. Às vezes ela reage diante de um pensamento mais complicado. Às vezes se assusta com o previsível de uma frase. Eu gosto de manejá-la – como gostava de estar montada num cavalo e guiá-lo pelas rédeas, às vezes lentamente, às vezes a galope.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

Observo a grandeza de Deus nos pequenos corpúsculos, nas galáxias, com inumeráveis estrelas e planetas, na ciência, no momento de leitura. Consigo ver Deus em todas essas coisas, mas infelizmente não tenho uma linguagem científica para expressá-las e descrevê-las. Assim me curvo perante esta Gloriosa Grandeza para agradecer o grau atingido.

Meus sinceros agradecimentos ao professor Dr. Paulo da Cunha Lana pelo meu resgate à vida acadêmica, pelo compromisso assumido, pelos ensinamentos e orientação proporcionados com dedicação, segurança e competência, pelo estímulo e confiança demonstrados.

A meus pais, irmãos e irmãs, pela força. Mesmo distantes e no anonimato, acompanham minha caminhada.

Meus prestimosos sentimentos de carinho, atenção e apoio à Celina Wisniewski, por tudo que tem dedicado a mim. Não tenho palavra capaz de expressar a minha gratidão.

Agradeço aos professores Maurício Camargo, Hedda Kolm, Theresinha Absher, Henry Spach e colegas de trabalho do CEM pela cooperação e companheirismo na realização deste trabalho, bem como à bibliotecária Mari que sempre esteve disponível para me auxiliar.

Aos ex- e atuais colegas de laboratório Orlei, Chico Faraco, Rosana, Lica, Tice, Leo Morrissy, Luciana, Pedro, Fabiana, Marco meiofauna, Vader, Gustavo e Maria Antônia, Carlos, Fernando (O escada) e Alessandro, pelo companheirismo no trabalho.

Meus sinceros agradecimentos aos colegas que colaboraram diretamente com meu trabalho e a quem sempre importunei na minha impaciência com as dúvidas: Maikito, Leo Sandrini, Kalina, Laurita (Chiquitina) pelo carinho e apoio na realização deste trabalho, a Marco Antônio pelo companheirismo no decorrer do curso.

A Micheli, um agradecimento especial, não só pelo apoio acadêmico, mas também pela ajuda com os obstáculos enfrentados no decorrer dessa caminhada.

A Cinthya e André, que colaboraram bastante para o meu aprendizado taxonômico, essencial para a realização desse trabalho.

As minhas colegas de alojamento Sibelle, Vilma, Ana e Helen, que sempre se esforçaram por tornar a situação mais confortável, em um espaço tão pequeno.

Aos amigos Fernando Sedor, Sibelle e Marco Fábio, por acompanharem e auxiliarem o meu aprendizado e pelo apoio durante as fragilidades familiares.

Ao seu Antônio e Ester, da Cantina, pelo companheirismo e encorajamento.

A todos aqueles que direta ou indiretamente garantiram por meio de idéias, colaborações e apoio, a finalização deste trabalho.

A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa durante o mestrado.

Finalmente, agradeço aos professores componentes da banca examinadora, que terão o trabalho de ler e eventualmente de reler esta dissertação.

Resumo

Permanece confusa a situação taxonômica das espécies referidas ao gênero *Laeonereis* ao largo da costa ocidental do Atlântico, desde os Estados Unidos até a Argentina. Na única revisão taxonômica disponível, o gênero foi reconhecido como monoespecífico, tendo *Laeonereis culveri* (Webster, 1880) como espécie-tipo. Por outro lado, *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923), com distribuição presumidamente restrita ao sul da costa brasileira, ao Uruguai e à Argentina, tem sido reconhecida como espécie válida por diversos autores. A presente análise avalia a variabilidade morfológica e morfométrica de 1420 indivíduos de 20 populações de *Laeonereis*, provenientes dos Estados Unidos, México, de onze estados brasileiros (do Pará ao Rio Grande do Sul) e da Argentina, na tentativa de encontrar padrões consistentes de variação que justifiquem a manutenção de *L. acuta* como espécie válida. Levando em conta a reconhecida diferenciação morfológica entre populações de *Laeonereis*, o trabalho procurou abordar as diversas fontes prováveis de variabilidade, incluindo o gradiente latitudinal de distribuição, o desenvolvimento ontogenético, os efeitos da contaminação ambiental e mesmo artefatos de técnica relacionados com a fixação e preservação. As análises morfológicas e morfométricas não evidenciaram quaisquer padrões consistentes de variabilidade geográfica ou latitudinal. A similaridade morfométrica é maior entre populações distribuídas nos extremos conhecidos da ocorrência da espécie do que entre populações da costa brasileira. A constrição da região anterior, que fundamentou a denominação *acuta* utilizada para definir originalmente *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923), é uma clara consequência de rotinas inadequadas de fixação. Cirros piriformes ou foliáceos, assim como lígulas cônicas ou triangulares, ocorrem em todas as populações, apesar de mais freqüentes em algumas localidades. O número de papilas, que admite ampla variabilidade em todas as áreas da probóscide, é uma função direta do tamanho dos organismos, chegando a triplicar ou quadruplicar em indivíduos adultos, padrão observado em todas as populações analisadas. Eventuais variações no comprimento relativo de cirros, lígulas e lóbulos dorsais, assim como a troca de cerdas, resultam de crescimento alométrico. Por fim, hipertrofia do cirro dorsal, ausência de lígula dorsal e eventuais bifurcações de cirros, lígulas e lóbulos dorsais foram observadas em populações de áreas moderada a fortemente poluídas por esgotos domésticos ou atividades portuárias, independentemente da localização geográfica. Tais anomalias devem ser levadas em conta em levantamentos de cunho taxonômico para evitar equívocos de identificação. Devido à ausência de gradientes ou tendências geográficas de variabilidade morfológica ou morfométrica, *Laeonereis culveri* deve ser considerada como a única espécie válida do gênero ao largo da costa atlântica das Américas. *Laeonereis acuta* deve ser tratada como sinônimo-júnior de *Laeonereis culveri*.

Palavras-chave: revisão taxonômica; Nereididae; *Laeonereis*; *Laeonereis culveri*; *Laeonereis acuta*

Abstract

The taxonomic status of species referred to the nereidid genus *Laeonereis* along the Western Atlantic coasts, from the United States to Argentina, remains controversial. In the only available taxonomic revision, the genus was recognized as monospecific, with *Laeonereis culveri* (Webster, 1880) as type-species. On the other hand, *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923) putatively distributed in the southern Brazilian coast, Uruguay and Argentina, is still recognized as a valid species by many authors. This taxonomic revision evaluates the morphologic and morphometric variability of 1420 individuals belonging to 20 populations of *Laeonereis*, from the United States, Mexico, eleven Brazilian states (from Pará to Rio Grande do Sul) and Argentina, in order to check for consistent variation patterns that could justify the maintenance of *L. acuta* as a valid species. The analysis takes into account a number of possible variation sources, including the latitudinal distribution gradient, ontogenetic development, pollution effects and even distortions caused by fixation and preservation routines. Morphologic and morphometric analyses did not show any consistent patterns of latitudinal or geographical variability. Morphometric similarity is larger between populations distributed in the known extremities of the species occurrence than among populations from the Brazilian coast. The constriction of the anterior region, used to justify the name *L. acuta*, is clearly caused by inadequate routines of fixation. Piriform or branched cirri as well as conical or triangular ligulae are widespread in all populations, although more frequent in some localities. The number of papillae, which admits a wide variability in all areas of the proboscis, is directly correlated with size, and can triplicate or even quadruplicate in larger animals. Variations in the relative length of cirri, ligulae and dorsal lobes, as well as in chaetal changes, result from allometric growth. Hypertrophy of the dorsal cirrus, absence of the dorsal ligulae and bifurcation of cirri, ligulae and dorsal lobes were observed in populations from highly or moderately polluted areas by domestic sewage or port activities, independently of the geographical location. Such anomalies must be taken into account in taxonomic surveys in order to prevent identification mistakes. Due to the absence of any consistent gradients or geographic trends of morphological or morphometrical variability, *Laeonereis culveri* should be recognized as the only valid species of *Laeonereis* along the Western Atlantic coast. *Laeonereis acuta* is a junior synonym for *Laeonereis culveri*.

Key-words: taxonomic revision; Nereididae; *Laeonereis*; *Laeonereis culveri*; *Laeonereis acuta*

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO.....	7
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	7
4 RESULTADOS	17
4.1 - <i>VARIABILIDADE MORFOLÓGICA INTER- E INTRAPOPULACIONAL.....</i>	17
4.2 - <i>VARIABILIDADE MORFOMÉTRICA</i>	22
4.3 - <i>VARIABILIDADE ONTOGENÉTICA.....</i>	23
4.4 - <i>VARIABILIDADE POR MALFORMAÇÃO</i>	27
5 DISCUSSÃO	33
5.1 - <i>VARIABILIDADE MORFOLÓGICA INTER- E INTRAPOPULACIONAL.....</i>	33
5.2 - <i>VARIABILIDADE MORFOMÉTRICA DAS ESTRUTURAS PARAPODIAIS.....</i>	34
5.3 - <i>VARIABILIDADE ONTOGENÉTICA.....</i>	36
5.4 - <i>VARIABILIDADE POR MALFORMAÇÃO</i>	37
5.5 – <i>VARIABILIDADE CAUSADA POR ROTINAS INADEQUADAS DE FIXAÇÃO E CONSERVAÇÃO.</i>	38
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS	41
ANEXO	50

Lista de Figuras

FIGURA 1 – LOCALIZAÇÃO DAS 20 POPULAÇÕES ESTUDADAS DE <i>LAEONEREIS</i> AO LONGO DO ATLÂNTICO OCIDENTAL.....	9
FIGURA 2 – (A) CIRRO NOTOPODIAL DE BASE ESTREITA E EXTREMIDADE AGUDA E LÍGULA NOTOPODIAL DE BASE LARGA E EXTREMIDADE AGUDA; (B) CIRRO NOTOPODIAL DE BASE LARGA E EXTREMIDADE ARREDONDADA E LÍGULA NOTOPODIAL DE BASE LARGA E EXTREMIDADE ARREDONDADA.	11
FIGURA 3 – <i>LAEONEREIS</i> . QUARTO PARAPÓDIO (REGIÃO ANTERIOR). DISTÂNCIAS-PADRÃO UTILIZADAS PARA ANÁLISE MORFOMÉTRICA DAS ESTRUTURAS PARAPODIAIS. CNOT=CIRRO NOTOPODIAL; LNOT=LÍGULA NOTOPODIAL; LOBNOT= LÓBULO NOTOPODIAL; LOBNEU= LÓBULO NEUROPODIAL; LNEU= LÍGULA NEUROPODIAL; CNEU=CIRRO NEUROPODIAL.	13
FIGURA 4 - <i>LAEONEREIS</i> . (A) VISTA DORSAL DE ANIMAL VIVO ANESTESIADO (MENTOL EM ÁGUA DO MAR), COM REGIÃO ANTERIOR DO CORPO DE FORMATO RETILÍNEO; (B) VISTA DORSAL DE ANIMAL FIXADO EM FORMOL DILUÍDO A 4% EM ÁGUA DOCE E CONSERVADO EM ÁLCOOL A 70%, COM REGIÃO ANTERIOR DO CORPO DE FORMATO AGUDO OU AFILADO.	16
FIGURA 5 – REGIÃO ANTERIOR DE <i>LAEONEREIS</i> . A – ANIMAL COM DOIS PARES DE OLHOS BEM VISÍVEIS, DIFERENCIAÇÃO BEM MARCADA ENTRE PROSTÔMIO E PERISTÔMIO E CIRROS TENTACULARES DORSAIS ATINGINDO O SEGUNDO SETÍGERO. B – ANIMAL COM O PAR DE OLHOS POSTERIORES SEMI-ENCOBERTOS E CIRRO DORSAL ATINGINDO O TERCEIRO SETÍGERO.	18
FIGURA 6 – PROBÓSCIDE. VISTA: A - ANTERO-DORSAL, B E C - ANTERO- VENTRAL, E D - DISTRIBUIÇÃO DOS DENTES NAS MAXILAS DE <i>LAEONEREIS</i>	19
FIGURA 7 - VIGÉSIMO QUARTO PARAPÓDIO. A –CERDAS ESPINÍGERAS E FALCÍGERAS, B - FORMATO DA EXTREMIDADE DA ACÍCULA, C – SUBSTITUIÇÃO DE CERDAS DE <i>LAEONEREIS</i>	20
FIGURA 8 – VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS NOS CIRROS, LÓBULOS E LÍGULAS PARAPODIAIS. A. PRIMEIRO PARAPÓDIO: CIRROS NOTO-E NEUROPODIAL COM BASE ESTREITA E EXTREMIDADE AGUDA, LÓBULOS E LÍGULAS COM BASE ESTREITA E EXTREMIDADE ARREDONDADA; B. PRIMEIRO PARAPÓDIO: CIRROS NOTO- E NEUROPODIAL COM BASE LARGA; C. QUARTO PARAPÓDIO: CIRROS COM BASE LARGA E EXTREMIDADE AGUDA E LÍGULA NOTOPODIAL DE BASE LARGA E EXTREMIDADE ARREDONDADA; D. QUARTO PARAPÓDIO: CIRRO NOTOPODIAL	

DE BASE ESTREITA E EXTREMIDADE AGUDA E LÓBULO E LÍGULA NOTOPODIAL DE BASE ESTREITA E EXTREMIDADE AGUDA.	21
FIGURA 9 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE ESCALONAMENTO MULTIDIMENSIONAL (N-MDS) NÃO-MÉTRICO APLICADA ÀS MEDIDAS PARAPODIAIS EM QUINZE POPULAÇÕES (ESTRESSE=0,13). B.PARANAGUÁ=BAÍA DE PARANAGUÁ,PR=PARANÁ; ARG=ARGENTINA; RJ=RIO DE JANEIRO; EUA=ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA.	23
FIGURA 10 – JUVENIL COM QUINZE SEGMENTOS. PARAPÓDIO 5, COM DESENVOLVIMENTO DA LÍGULA NOTOPODIAL.	25
FIGURA 11 – A: CERDAS ESPINÍGERAS E FALCÍGERAS DE SETÍGERO POSTERIOR. B. PARAPÓDIO 24 - SETÍGEROS POSTERIORES DE ORGANISMOS ADULTOS COM TROCA DE CERDAS. C PARAPÓDIO 65 - DESENVOLVIMENTO DOS LÓBULOS NEUROPODIAIS EM ORGANISMO ADULTO,	26
FIGURA 12– SEQÜÊNCIA DO CRESCIMENTO ALOMÉTRICO DAS LÍGULAS NOTOPODIAIS DOS PARAPÓDIOS POSTERIORES DE <i>LAEONEREIS</i> . A: PARAPÓDIO 117, B: PARAPÓDIO 114, C: PARAPÓDIO 75, D: PARAPÓDIO 55.	27
FIGURA 13 – MALFORMAÇÕES MORFOLÓGICAS NOS PARAPÓDIOS DE <i>LAEONEREIS</i> . A. PRIMEIRO PARAPÓDIO - CIRRO HIPERTROFIADO E AUSÊNCIA DE LÍGULA, B. PRIMEIRO PARAPÓDIO - LÓBULO NEUROPODIAL BIFURCADO, C. PRIMEIRO PARAPÓDIO - LÓBULO PRÉ-SETAL BIFURCADO, D. QUARTO PARAPÓDIO - CIRRO NEUROPODIAL BIFURCADO, E. QUARTO PARAPÓDIO - LÍGULA NOTOPODIAL BIFURCADA E F. VIGÉSIMO QUARTO PARAPÓDIO - LÍGULA NOTOPODIAL BIFURCADA	29
FIGURA 14 - VARIAÇÕES DA RAZÃO P/S (LARGURA DO PERISTÔMIO:LARGURA DO SETÍGERO 6) EM INDIVÍDUOS DE <i>LAEONEREIS</i> MEDIDOS SEM ANESTÉSICO FIXADOS EM FORMOL SALINO (1) E EM ÁGUA DOCE (2), ANESTESIADOS COM MENTOL E FIXADOS EM FORMOL SALINO (3) E EM ÁGUA DOCE (4), ANESTESIADOS COM CLORETO DE MAGNÉSIO ($MgCl_2$) E FIXADOS EM FORMOL SALINO (5) E EM ÁGUA DOCE (6) E ANESTESIADOS COM MENTOL EM ÁGUA SALGADA (CONTROLE) (7).	31
FIGURA 15 – EFEITO DOS TRATAMENTOS DE ANESTESIA E FIXAÇÃO NA POSIÇÃO DAS MANDÍBULAS DE <i>LAEONEREIS</i> : A. ANIMAL ANESTESIADO COM MENTOL E FIXADO EM ÁGUA SALGADA E B. ANIMAL FIXADO DIRETAMENTE NO FORMOL EM ÁGUA DOCE.....	32
FIGURA 16 - REGRESSÃO LINEAR ENTRE COMPRIMENTO TOTAL E NÚMERO DE SETÍGEROS EM ESPÉCIMES DE <i>LAEONEREIS</i>	33

Lista de Tabelas

TABELA 1 - PROVENIÊNCIA E INFORMAÇÕES DE COLETA, DEPOSIÇÃO E NÚMERO DE EXEMPLARES EXAMINADOS	
DAS 20 POPULAÇÕES ESTUDADAS.	8

1 INTRODUÇÃO

Espécies da família Nereididae formam um dos grupos mais conhecidos, freqüentes e amplamente distribuídos de poliquetas, habitando desde ambientes marinhos até água doce, além de serem encontradas até mesmo em cavernas e sob o córtex de árvores (GLASBY, 1999; WILSON, 2000). Apresentam uma grande diversidade de regimes alimentares, com hábitos carnívoro, herbívoro, onívoro e mesmo filtrador (FAUCHALD & JUMARS, 1979). Em vida, exibem uma variedade de padrões de pigmentação (GLASBY, 1999; WILSON, 2000).

Muitos nereidídeos sofrem modificações estruturais durante a reprodução, transformando-se em formas epítocas, geralmente com olhos hipertrofiados e seções do corpo diferenciadas para a natação, o que possibilita o deslocamento do fundo para a coluna da água, por meio de movimentos ondulatórios. Por outro lado, nereidídeos de água doce ou salobra tendem a sofrer menos modificações, com a reprodução ocorrendo em estado átoco e o desenvolvimento larval bentônico (KLESCH, 1970; MAZURKIEWICZ, 1975).

A família Nereididae faz parte do clado Phyllodocida; neste clado é considerada parte de Nereidiformia, que inclui ainda as famílias Chrysopetalidae, Syllidae, Pilargidae e Hesionidae (PLEIJEL & DAHLGREN, 1998; GLASBY *et al.*, 2009). Há cerca de 500 espécies descritas, distribuídas em 41 gêneros. A família é considerada monofilética, com base no prostômio em forma de T invertido, presença de notopódios distintos com um ou mais lóbulos achatados e notocerdas compostas falcíferas e/ou espiníferas. O prostômio tem um par de antenas frontais e um par de palpos biarticulados. A probóscide é eversível, com paragnatas ou papilas e um par de mandíbulas distais (GLASBY, 1993; ROUSE & FAUCHALD, 1997). Os parapódios geralmente apresentam dois ramos igualmente desenvolvidos, mas em alguns gêneros o notopódio pode se apresentar reduzido ao cirro dorsal. As notocerdas, sempre compostas, são em sua maioria homogonfas espiníferas, algumas vezes substituídas por homogonfas falcíferas. Na região posterior, o anel pigidial contém um par de cirros (GLASBY, 1993; ROUSE & FAUCHALD, 1997).

O gênero *Laeonereis* é diagnosticado pelo prostômio subpiriforme, com um par de antenas frontais, palpos biarticulados, dois pares de olhos, peristômio aqueta, quatro pares de cirros peristomiais com cirróforos distintos e curtos. Os dois primeiros

setígeros sesquiritres e os demais, birritres. As notocerdas são espiníferas homogonfas e as neurocerdas espiníferas homogonfas (na parte posterior do corpo, falcíferas homogonfas). O pigídio tem um par de cirros anais. A probóscide tem um par de maxilas, sem paragnatas, com papilas arranjadas em tufo em todas as áreas do anel maxilar ou distal, mas com uma única papila cônica em cada uma das áreas VI do anel oral. O gênero foi criado por Hartman (1945) a partir de *Nereis culveri* Webster, 1880, coletada em Great Egg Harbor, New Jersey (USNM542). O gênero *Nereis* seria reservado para as espécies com paragnatas cônicas em ambos os anéis, totalmente ausentes em *Laeonereis culveri*. No mesmo trabalho, Hartman (1945) sinonimizou *Nereis (Leptonereis) acuta* Treadwell, 1923 com *Laeonereis culveri* e também referiu a *Laeonereis* as espécies *Nereis (Leptonereis) cebuensis* Grube 1878, das Filipinas, *Nereis (Leptonereis) inermis* Hoagland, 1920, também das Filipinas, e *Leptonereis foli* Fauvel, 1930, da Nova Caledônia.

Pettibone (1971) na única revisão disponível do gênero, considerou *Laeonereis* monoespecífico, referindo *Nereis (Leptonereis) acuta* Treadwell, 1923, Santos (SP, Brasil), *Leptonereis pandoensis* Monro, 1937, do Uruguai, *Leptonereis nota* Treadwell, 1941, do Golfo do México e *Laeonereis brunnea* Hartmann-Schröder, 1949 da costa pacífica da Costa Rica à espécie-tipo *Laeonereis culveri* (Webster, 1880), originalmente descrita para New Jersey e North Carolina (USA). Na mesma revisão, transferiu *Laeonereis foli* (Fauvel, 1930), *Laeonereis ankyloseta* Day, 1957, da África do Sul e *Laeonereis glauca* (Claparède, 1870), do Mediterrâneo e Mar do Norte, para *Websterinereis*. Segundo a revisão de Pettibone (1971), o gênero *Laeonereis* teria extensa distribuição geográfica, mas restrito a costa atlântica das Américas.

Dezesseis espécies referidas originalmente para os gêneros *Nereis (Leptonereis)* ou *Leptonereis* foram transferidas para sete outros gêneros, incluindo *Kinberginereis*, *Laeonereis*, *Platynereis*, *Rullierinereis*, *Tylorrynchus* e *Websterinereis* (PETTIBONE, 1971). Embora *Leptonereis* tivesse sido considerado inválido na revisão de Pettibone, a espécie *Leptonereis leavis* foi validada por Salazar-Vallejo & Londoño-Mesa (2004) e Fauchald (2009).

Laeonereis brunnea Hartmann-Schröder, 1959, da costa pacífica da Costa Rica, foi considerada válida por Dean (2001) e Salazar-Vallejo & Londoño-Mesa (2004). Da mesma forma, *Laeonereis glauca* (Claparède, 1870), conhecida do Mediterrâneo e Mar do Norte, foi considerada válida por Zlobin (1994), procedimento ratificado pelo

ITIS (2008), mas não pelo MARBEF (2008). Orensanz & Gianuca (1974) também consideraram *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923) como espécie válida, com base em diferenças pequenas, mas constantes, no comprimento das língulas e lóbulos notopodiais posteriores em espécimes da América do Norte e da América do Sul. Estas diferenças justificariam o reconhecimento de duas espécies válidas de *Laeonereis* ao longo da costa atlântica das Américas: *Laeonereis acuta*, com língulas neuropodiais mais curtas que os lóbulos, com ocorrência restrita ao hemisfério sul entre Santos (Brasil) e a Península Valdez (Argentina) e *Laeonereis culveri*, com língulas notopodiais mais longas que os lóbulos nos parapódios posteriores, restrita ao hemisfério norte desde New Jersey até o Golfo do México (Estados Unidos).

Seis subfamílias haviam sido propostas ao longo da história taxonômica da família Nereididae (BANSE, 1977). Santos *et al.* (2005), em uma das mais recentes análises filogenéticas da família, não reconhecem Notophycinae, nem Nereidinae, nem Dendronereidinae. As únicas subfamílias recuperadas e consideradas monofiléticas foram Namanereidinae e Gymnonereidinae, além dos clados não nominados, um dos quais composto por *Laeonereis* e *Australonereis ehlersi* e diagnosticado pela presença de papilas no anel oral da probóscide. Este clado foi fracamente suportado e por isso não foi formalmente nominado, levando-se em conta ainda que a presença de papilas é altamente homoplástica. Este grupo, não reconhecido previamente na análise de Banse (1977), havia sido incluído nos Gymnonereidinae por Fitzhugh (1987).

Animais referidos a *Laeonereis culveri* têm a reconhecida capacidade de ocupar diversos habitats costeiros, com ampla tolerância a variações de temperatura e de salinidade (PETTIBONE, 1971), o que possivelmente explica a sua ampla distribuição. Uma elevada plasticidade fenotípica seria igualmente esperada em populações de espécies com ampla distribuição geográfica e, portanto, sujeitas a pressões ambientais e histórias evolutivas muito distintas (DEBAT *et al.*, 2003).

A forma do corpo reúne um conjunto importante de características que podem ser usadas para diferentes propósitos, tais como estudos de taxonomia, ecologia, evolução e crescimento (COSTA-PAIVA *et al.*, 2007). Apesar dos recentes avanços da filogenia molecular, a análise das características morfológicas dos animais continua sendo a base de muitos estudos taxonômicos ou de ecologia populacional (MENDEZ & CARDEL, 1994; WORSAAE, 2001; GLASBY *et al.*, 2003; DONG *et al.*, 2006; GARRAFFONI & CAMARGO, 2006; COSTA-PAIVA & PAIVA, 2007).

A variabilidade morfológica encontrada entre indivíduos ou populações de uma espécie pode ter diversas fontes, que devem ser consideradas como um todo em trabalhos de revisão taxonômica e filogenética, para uma correta definição dos táxons ou clados e para uma identificação consistente das espécies.

A primeira fonte de variabilidade morfológica é de ordem genética. Muitos indivíduos dentro de ou entre populações possuem genótipos distintos e estas diferenças afetam a sua aparência externa, comportamento e fisiologia (fenótipo). Alterações morfológicas com valor adaptativo já foram constatadas em várias espécies de poliquetas, incluindo o desenvolvimento de estruturas para melhor captação de oxigênio em substratos anóxicos (ECKELBARGER & YOUNG, 2002).

Uma segunda fonte de variabilidade morfológica é ontogenética ou de desenvolvimento. Os poliquetas passam por alterações graduais durante o desenvolvimento do ovo até o adulto, incluindo transformações na forma ou no tamanho relativo das estruturas (QIAN, 1999). As diferenças entre formas larvais são muito evidentes nos organismos marinhos, principalmente durante os sucessivos estágios de metamorfose de larvas para juvenis. Apesar disto, ainda é escasso o conhecimento dos caracteres larvais e da complexidade das modificações ontogenéticas nas fases iniciais de vida na maioria dos poliquetas (STRATHMANN, 1993). Com exceção de MAZURKIEWICZ (1975, 2007), a maioria dos estudos sobre a biologia reprodutiva e o desenvolvimento de *Laeonereis* (OMENA & AMARAL, 2000; SANTOS *et al.*, 2003; MACCORD, 2005) não abordaram especificamente o desenvolvimento ontogenético dos organismos. A reprodução ocorre apenas uma vez durante o ciclo de vida e os adultos morrem 10 a 16 dias após a desova (SANTOS *et al.*, 2003). As fêmeas depositam os óvulos em galerias mucosas e os mantêm irrigados por movimentos ondulatórios do corpo, produzindo uma corrente que induz a entrada de espermatozóides. A embriogênese e a formação da larva com 3 setígeros podem durar de 4 a 7 dias, ao passo que a maturidade é atingida após 6 meses (MAZURKIEWICZ, 1975). Mudanças ontogenéticas muito evidentes incluem ainda a troca de cerdas durante o desenvolvimento das larvas para adultos (MAZURKIEWICZ, 2007).

A alometria ontogenética designa as alterações das dimensões relativas das partes do corpo que estão correlacionadas com transformações das dimensões do corpo como um todo (BEN-ELIAHU, 1987). Neste sentido, a alometria permite

reconhecer padrões de variação morfológica dentro e entre grupos, possibilitando a análise da relação de tamanho entre duas características durante o crescimento. O conhecimento desta variabilidade facilita a correta determinação de caracteres e a compreensão da trajetória ontogenética dos organismos (FRANKINO *et al.*, 2007). Crescimento alométrico é observado com frequência nos lóbulos dos parapódios posteriores de nereidídeos (BEN-ELIAHU, 1987), provavelmente pelo fato desta região encontrar-se frequentemente em regeneração devido à ação de predadores ou autotomia por estresse.

O resultado da variabilidade morfológica e ontogenética pode ser complementado por análises morfométricas, rotinas de observação e mensuração mais quantitativas e menos subjetivas, mas igualmente essenciais para uma melhor compreensão dos processos evolutivos e da diferenciação das espécies (CLAUDE, 2008). Estas abordagens permitem uma avaliação mais rigorosa da variação morfológica e a conseqüente definição de agrupamentos, com base em métodos estatísticos multivariados (BOOKSTEIN, 1982; CHIBIMBA *et al.*, 1999; JORDAENS *et al.*, 2002; KLIGENBERG, 2002). O reconhecimento de diferenças morfológicas consistentes entre grupos de indivíduos tem importante aplicação nos estudos taxonômicos e evolutivos (ROHLF & MARCUS, 1993). Apesar da eficiência dessas técnicas, estudos morfométricos têm sido pouco utilizados para definir caracteres, espécies ou populações de poliquetas (BEN-ELIAHU, 1987; FAUCHALD, 1991; GARRAFFONI & CAMARGO, 2007; COSTA-PAIVA *et al.*, 2007; COSTA-PAIVA & PAIVA, 2007; LATTIG *et al.*, 2007). Embora alguns trabalhos já tenham aplicado técnicas morfométricas para análise da dinâmica populacional de *Laeonereis* (OMENA & AMARAL, 2001; MACCORD, 2005), ninguém testou até o momento os possíveis agrupamentos entre as populações desse gênero.

A variabilidade morfológica pode ser ainda de natureza ecofenotípica, ou seja, resultante de adaptações a diferenças no habitat (nutrição, condições energéticas, qualidade ambiental, etc.) ou de distintos hábitos de vida, como a utilização ou não de diversas partes do corpo. Já foram relatadas anomalias em poliquetas de ambientes degradados por atividades industriais ou portuárias ou poluição por despejo de esgotos domésticos (MOHAMMAD, 1981). Populações de *Laeonereis*, comuns em ambientes estuarinos da costa sul do Brasil, têm sido utilizadas como espécies-alvo em estudos toxicológicos. Bioensaios em cultivos de laboratório enriquecidos com cobre mostraram

que alguns animais perderam a capacidade de produzir muco corporal e apresentaram hematomas ao longo do corpo, além de alterações nos setígeros (GERACITANO *et al.*, 2002), podendo mesmo servir de modelos para avaliação de efeitos de poluição (GERACITANO *et al.*, 2004)

Finalmente, parte da variabilidade morfológica observada em material fixado, usualmente empregado para fins de identificação e caracterização taxonômica, pode ser um simples artefato de técnica. A forma final de poliquetas e de outros animais de corpo mole é afetada pelas rotinas de fixação e conservação do material biológico. Embora a literatura recomende boas técnicas de anestesia e fixação (MARTIN, 2004; WARWICK & PRICE, 1975; TUCKER & CHESTER, 1984), muitas descrições e revisões taxonômicas estão baseadas em espécimes fixados de forma inadequada. Muitos espécimes usados para fins taxonômicos provem de amostragens para fins ecológicos, sem receber maiores cuidados curatoriais, o que afeta as análises morfológicas e morfométricas posteriores. Como exemplo, poliquetas tendem a ser fixados diretamente em soluções salinas ou de água doce de formol a 4%, procedimento que pode causar importantes contrações ou distensões musculares. Alterações na forma do animal podem mascarar caracteres importantes e/ou dificultar a obtenção de caracteres morfométricos fidedignos em espécimes fixados. Em situações limite, o método de fixação pode até mesmo impedir a identificação precisa dos animais (WORSAAE, 2001). Espécimes referidos a *Laeonereis* ao longo de toda a área conhecida de distribuição do gênero tendem a apresentar a região anterior do corpo com formato retilíneo *in vivo*, independentemente da localização geográfica. No entanto, espécimes fixados, provenientes de diversas localidades, apresentam marcada variabilidade na largura relativa da região anterior, variando desde o tipo agudo até o tipo retilíneo.

Apesar da ocorrência de *Laeonereis* ao longo de quase toda a costa atlântica das Américas, não existem ainda análises consistentes da variabilidade morfológica das diversas populações encontradas, que permitam definir se elas de fato pertencem a uma ou mais espécies. Neste contexto, até mesmo a validade dos táxons descritos permanece em aberto. *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923), sinonimizada com *Laeonereis culveri* (Webster, 1880) na abrangente revisão de Pettibone (1971), foi ou continua a ser considerada espécie válida por vários autores (ORENSANZ & GIANUCA, 1974; OMENA & AMARAL, 2001; SANTOS & LANA, 2001; SANTOS *et al.*,

2003; GERACITANO *et al.*, 2002; GERACITANO *et al.*, 2004; MACCORD, 2005; PAMPLIN *et al.*, 2007). O fato é que permanecem muitas dúvidas sobre o correto *status* taxonômico do gênero e sobre a validade das espécies até agora descritas, o que justifica a realização da presente análise morfológica.

2 OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a variabilidade morfológica do gênero *Laeonereis* (Nereididae; Polychaeta), com base em populações referidas às espécies *Laeonereis acuta*, *Laeonereis culveri* ao longo de toda a sua área de distribuição, desde a costa leste norte-americana (Connecticut) até a Península Valdez (Argentina) e *Laeonereis brunnea* e *Laeonereis glauca* do Pacífico e do Mediterrâneo. Foram consideradas distintas fontes de variabilidade morfológica, incluindo a variabilidade intra- e interpopulacional, a variabilidade ontogenética, malformações presentes em áreas contaminadas e artefatos de técnica introduzidos por fixação e conservação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados 1420 exemplares provenientes de 20 populações distribuídas ao longo da área de ocorrência do gênero, na costa atlântica das Américas (TABELA 1 e FIGURA 1).

TABELA 1 - Proveniência e informações de coleta, deposição e número de exemplares examinados das 20 populações estudadas.

País	Local de coleta	Coordenadas	Coletor ou curador	Instituição	Exs
Estados Unidos	Conecticut_1/ Mystic River (08/09/65)	41°19'N - 71°58'W	Mazurkiewicz, M.(1969)	U.S.Maine emprestado	20
Estados Unidos	Conecticut_2/Mystic River (05/04/67)	41°19'N - 71°58'W	Mazurkiewicz, M.(1969)	U.S.Maine emprestado	37
México	Chetumal/ Quitana Roo (26/09/96)	18°29'41"N-88°18'57"W	Carrera-Parra,L.F.	ECOSUR-EI Colegio de La Frontera Sur	40
	Chetumal/ Quitana Roo(22/09/96)	18°29'40"N-88°17'17"W	Carrera-Parra,L.F.	ECOSUR-EI Colegio de La Frontera Sur	35
	Chetumal/ Baía de Chetumal(27/08/02)	18°26'N - 88°13'W	Radashevsky,V.	CEM-UFPR	10
Brasil	Amapá/ Calçoene (17/11/98)	2°51'30"N-50°53'54"W	Lopes,A.T.(2003)	UFPA	11
	Pará/ Maçarico/ Praia do Maçarico – Salinópolis (27/02/99)	0°36'15"N-47°21'57"W	Lopes,A.T. .(2003)	UFPA	11
	Maranhão/Ilha de Cajual (19/04/91)	2°26'96"S-44°28'12"W	Lopes,A.T. .(1993)	UFMA	109
	Maranhão/praias de Araçagi(12/01/03)	2°49'73"S-44°27'84"W	Oliveira,V.M.	UFPR	10
	Pernambuco/Crocinha/Rio Formoso(10/01/01)	8°31'88"S-35°11'90"W	Roberto,J.	UFPE	32
	Alagoas/Riacho Jacarecica/Celmin(09/92)	9°32'54"S-35°44'18"W	Hilda Sovierzoski		139
	Sergipe/Rio Piauí(09/12/92)	11°33'22"S-37°28'39"W	Santos,C.S.S.(1996)	UFPR	4
	Bahia/Madre de Deus(05/05)	12°42'34"S-38°34'35"W	Santos,C.S.S. (1996)	UFPR	12
	Rio de Janeiro/Saquarema(02/03)	22°54'48"S-42°29'32"W	Santos,C.S.S. (1996)	UFPR	28
	Rio de Janeiro/Duque de Caxias	22°42'77"S-43°17'87"W	Santos, C.S.S. (1996)	UFPR	23
	São Paulo/Ubatuba(05/99)	23°25'09"S-45°24'99"W	Muniz,P.	Facultad de Ciências (Montevideo)	50
	São Paulo/São Sebastião(10/05/02)	24°44'11"S-45°23'27"W	MarCcord,F.S. (2005)	UNICAMP	40
	Paraná/ B. Pguá/setor interno(03/04/03)	25°31'73"S-48°55'83"W	Santos/Oliveira	UFPR	258
	Paraná/B. Pguá/setor externo(05/06/02)	25°36'60"S-48°16'13"W	Santos/Oliveira	UFPR	487
	Santa Catarina/Sistema estuarino de Laguna (08/04)	23°32'58"S-48°34'58"W	Netto,S.	UNISUL	2
	Rio Grande do Sul/Rio Grande(27/06/02)	31°57'44"S-52°04'04"W	Angoseni,L.	FURGS	14
Argentina	Mar del Plata/ Mesolitoral de la zona sur la Bahia de Samborombón(12/02/98)	38°00'11"S - 57°32'14"W	Muniz,P.	Facultad de Ciências (Montevideo)	42
	Puerto Madryn/ Playa Fracasso(14/04/03)	42°44'16"S-65°00'83"W	Muniz,P.	Facultad de Ciências (Montevideo)	38

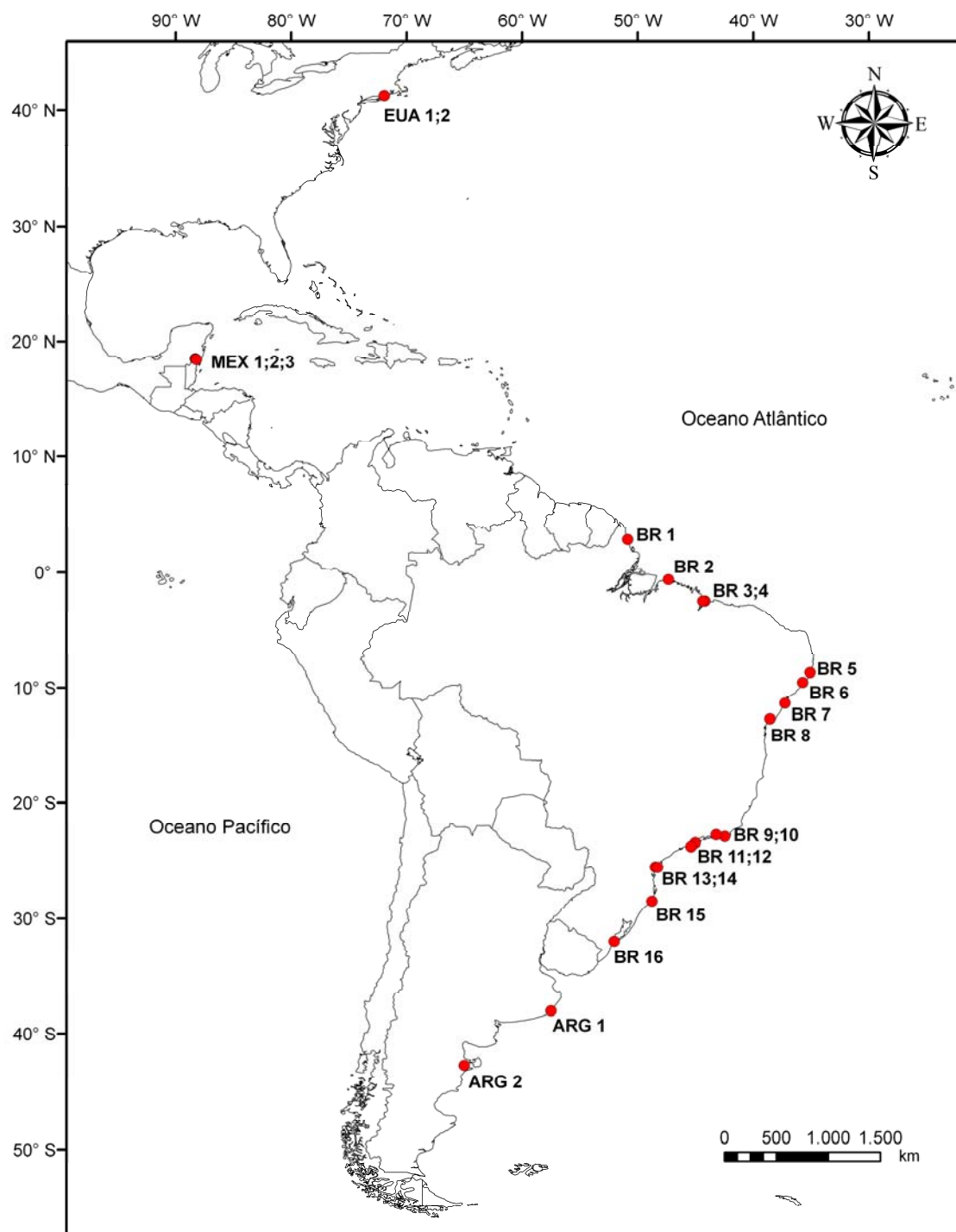


FIGURA 1 – Localização das 20 populações estudadas de *Laeonereis* ao longo do Atlântico Ocidental.

Informações adicionais sobre a morfologia de *Laeonereis* foram obtidas da literatura primária, a partir de um levantamento exaustivo da bibliografia publicada até o presente. Os sintipos de *Laeonereis culveri*, depositados no United States National

Museum (USNM 541) e os parátipos de *Laeonereis acuta*, depositados com número de tombo USNM 19030, não puderam ser re-examinados, devido a restrições para empréstimos destes museus para instituições brasileiras. Nestes casos, foram utilizadas, sempre que necessário, as detalhadas re-descrições de Pettibone (1971), além das descrições originais e do exame sistemático de material coletado na proximidade das localidades-tipo.

O levantamento dos caracteres analisados foi realizado por meio de observação, descrição e ilustração dos animais. Foram utilizados estereomicroscópios e microscópio óticos, equipados com câmara clara, no Laboratório de Bentos e no Departamento de Zoologia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR. Recursos de interpretação e processamento de imagens foram disponibilizados pelo próprio Centro de Estudos do Mar e pelo Departamento de Zoologia da UFPR.

As rotinas de análise compreenderam:

Variabilidade morfológica inter- e intrapopulacional - A rotina de observação para análise de variabilidade morfológica envolveu o exame da região anterior, com ênfase no prostômio e peristômio, e dos parapódios ao longo do corpo de exemplares de todas as populações estudadas. Ainda na região anterior, foram observados a distribuição, morfologia e número de papilas na probóscide, assim como o número de dentes das maxilas em espécimes de 6 a 119 setígeros. Para uma melhor visualização das papilas, os exemplares dissecados foram corados com Shirlastain.

Para a descrição da variabilidade, foram reconhecidas três regiões do corpo:

- anterior, incluindo os dois primeiros parapódios sesquiritêmos e prolongando-se até o parapódio 17. Os parapódios desta região são bem desenvolvidos e já estão completamente formados;
- mediana, do parapódio 18 ao 30. As estruturas parapodiais, apesar de já formadas e bem evidentes, ainda podem aumentar de tamanho e volume;
- posterior, a partir do parapódio 31 até o pigídio. Os parapódios desta região encontram-se em desenvolvimento, com lígulas e cirros frequentemente aparecendo como pequenas protuberâncias.

Para fins de padronização, foram sempre observados os mesmos parapódios em todas as populações analisadas. Foi adotada a nomenclatura de *lóbulo* para as estruturas com acículas internas ou de sustentação, *lígula* para as projeções

laterais aos lóbulos, desprovidas de acículas, e *cirros* para as projeções mais externas dos parapódios.

Na ausência de uma nomenclatura já estabilizada na literatura para descrever o formato destas estruturas parapodiais, foram reconhecidos dois padrões de variação:

- estruturas com base larga (largura maior do que a metade do comprimento) ou base estreita (largura menor do que a metade do comprimento) (FIGURA 2A);
- estruturas com extremidade aguda (formando ângulos variáveis) ou arredondada (FIGURA 2A e B).

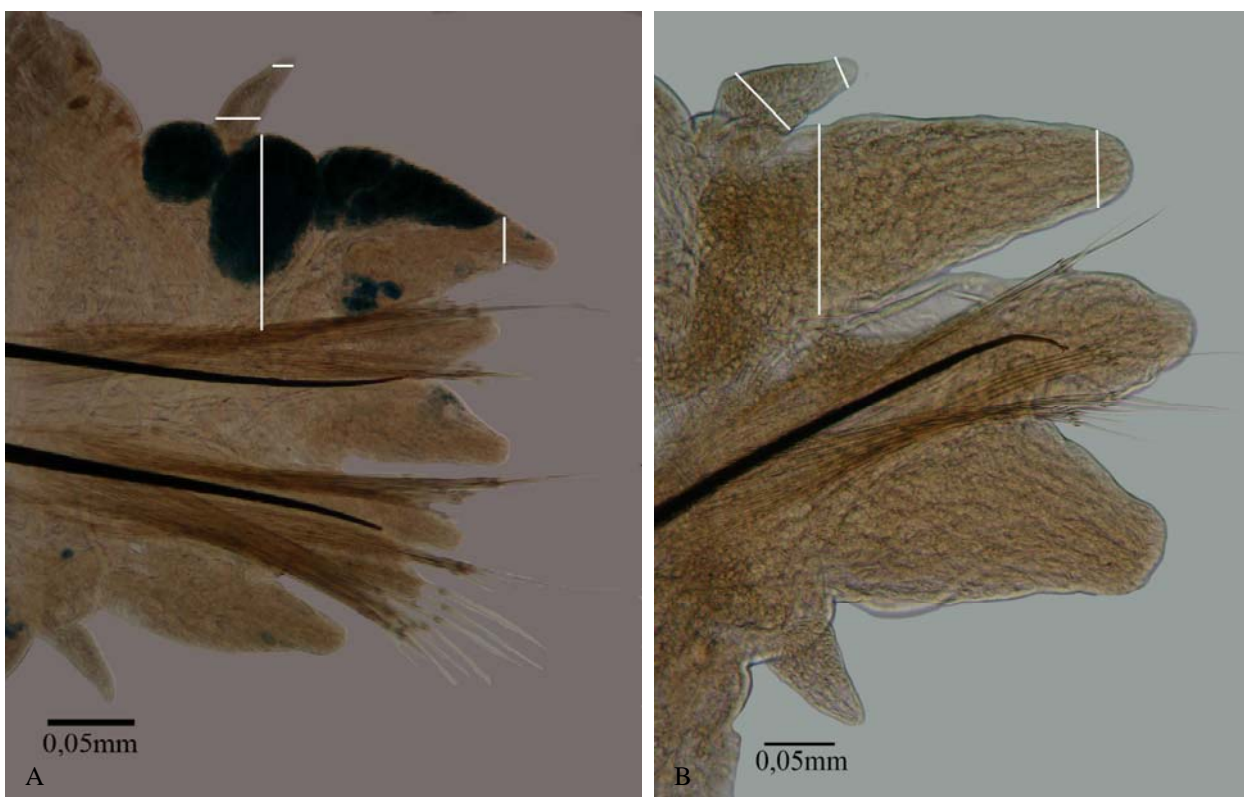


FIGURA 2 – (A) Cirro notopodial de base estreita e extremidade aguda e lígula notopodial de base larga e extremidade aguda; (B) Cirro notopodial de base larga e extremidade arredondada e lígula notopodial de base larga e extremidade arredondada.

Padrões de pigmentação e quaisquer variações adicionais foram igualmente registrados.

Variabilidade morfométrica dos parapódios – A análise morfométrica foi restrita aos parapódios para avaliar se eventuais diferenças de desenvolvimento

parapodial separariam as espécies *acuta* e *culveri*. Foram tomadas as medidas das estruturas de um parapódio de cada região (a escolha do parapódio em cada região foi uma forma de padronização, uma vez que as estruturas apresentavam padrão de desenvolvimento semelhantes) para um total de 490 parapódios, tomados de cinco a dez indivíduos adultos completos ou incompletos de cada uma de quinze populações – Estados Unidos: Connecticut_1 e Connecticut_2; Brasil: AP, PA, MA, PE, AL, BA, Saquarema(RJ), Duque de Caxias(RJ), Setor interno e Setor externo da Baía de Paranaguá(PR), RS; Argentina: Mar del Plata e Puerto Madryn. Não foi possível aplicar a análise aos exemplares do México, pois os termos de empréstimo não permitiram a realização de cortes. Não foram feitas medidas nos exemplares de Sergipe e Santa Catarina, por causa do pequeno número de exemplares disponíveis.

Foi medido um número variável de distâncias entre marcos anatômicos (base de inserção dos parapódios e as extremidades das estruturas parapodiais) dependendo da região do corpo e do desenvolvimento dos parapódios: cinco distâncias no primeiro setígero; seis distâncias no quarto e nono setígeros, que têm um lóbulo a mais; três medidas no vigésimo quarto setígero, geralmente em desenvolvimento, com cirros e língulas neuropodiais não completamente formadas ou ausentes. As distâncias entre cirros, língulas e lóbulos foram utilizadas para estabelecer relações de proporção que pudessem ser informativas para definir padrões de agrupamento entre populações distribuídas ao longo de um gradiente latitudinal (FIGURA 3).

Para fotografias foi utilizada uma câmara digital Canon PowerShot S45 com 4.0M pixels, acoplada a microscópio ótico. As fotografias foram transferidas para computador e em seguida colocadas em escala no programa Adobe Photoshop CS2 version 9.0. As medidas foram obtidas a partir de linhas traçadas sobre as imagens digitais com o programa Imagej (Image processing and analysis in Java)1.37v/Java 1.5.0_09 (FIGURA 3).

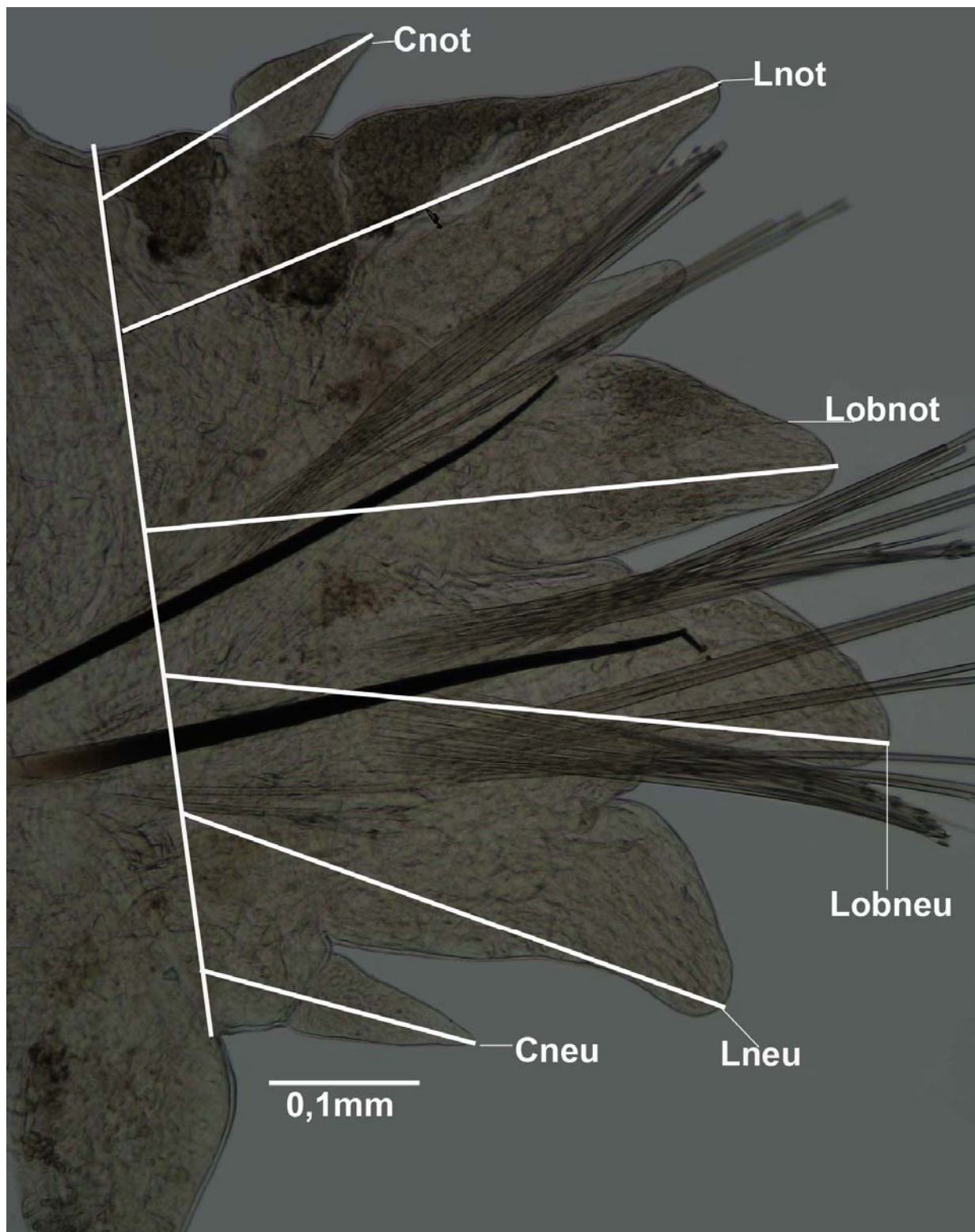


FIGURA 3 – *Laeonereis*. Quarto parapódio (região anterior). Distâncias-padrão utilizadas para análise morfométrica das estruturas parapodiais. Cnot=cirro notopodial; Lnot=lígula notopodial; Lobnot= lóbulo notopodial; Lobneu= lóbulo neuropodial; Lneu= lígula neuropodial; Cneu=cirro neuropodial.

Análises multivariadas de proximidade e similaridade foram aplicadas para avaliar a existência de possíveis padrões de distribuição das populações, com a eventual formação de agrupamentos isolados ou a existência de um *contínuum* ao longo do gradiente de distribuição latitudinal. O n-MDS é utilizado para o melhor entendimento das relações entre as populações por meio de sua maior ou menor “proximidade” espacial em duas ou mais dimensões, com a construção de mapas ou configurações dos objetos a partir dos caracteres analisados (CLARKE & WARWICK, 2001). A ANOSIM é uma análise de similaridade para detectar as diferenças entre os grupos estabelecidos *a priori* no n-MDS (CLARKE & WARWICK, 2001). Dessa forma, essa análise calcula a probabilidade de ocorrência dos grupos delimitados anteriormente pelo n-MDS de forma aleatória. Nesse trabalho a ANOSIM foi utilizada para testar os possíveis padrões morfológicos entre as populações de *Laeonereis* ao longo da área de distribuição. Este pacote encontra-se disponível no programa PRIMER, bastante utilizado para análises ecológicas, mas pouco usado para análises morfométricas (BEN-ELIAHU, 1987; FAUCHALD, 1991).

Variabilidade ontogenética - A análise de variabilidade ontogenética baseou-se na observação de animais vivos, com 3 a 119 setígeros, provenientes da Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil). Animais adultos foram coletados nos meses de fevereiro a março de 2008, acondicionados em frascos e conduzidos para o laboratório para observação das estruturas, com ênfase na distribuição e forma de papilas da região proboscídial, no número de dentes das maxilas, nas mudanças dos padrões de cerdas e nos padrões de crescimento das língulas e lóbulos notopodiais dos parapódios posteriores. Larvas e juvenis foram coletadas nas camadas superficiais do substrato, acondicionadas em frascos plásticos e levadas para o laboratório, onde foram triadas com água ambiente sem qualquer tipo de anestésico. A visualização do número de dentes e posição de fixação das maxilas, da morfologia da acícula, bem como do desenvolvimento e troca das cerdas dos parapódios nos organismos fixados, foi realizada com a fórmula de Grey & Wess (HUMASON, 1979) para diafanização, composta de álcool polivinílico -2 g, acetona 70% (7 ml), glicerina (5 ml), ácido láctico (5 ml) e água destilada (10ml). Material juvenil adicional, proveniente de São Paulo e doado por MacCord (2005), foi igualmente examinado.

O desenvolvimento do material proveniente do Paraná e São Paulo foi comparado com as descrições de Mazurkiewicz (1975). As transformações alométricas

durante o desenvolvimento têm elevada relevância taxonômica, embora estudos deste tipo de variabilidade sejam praticamente inexistentes (BEN-ELIAHU, 1987).

Variabilidade causada por malformações ou anomalias - A análise da variabilidade morfológica de populações de *Laeonereis* permitiu o reconhecimento de anomalias parapodiais em indivíduos de áreas moderada a fortemente poluídas por esgoto doméstico e/ou atividades portuárias ao longo de toda a área de distribuição. Alterações desta natureza são raras ou ausentes em populações de áreas prístinas ou pouco impactadas. É importante que esta variabilidade seja adequadamente caracterizada para evitar a introdução de equívocos em diagnoses ou descrições taxonômicas.

Variabilidade causada por rotinas inadequadas de fixação e conservação - Animais foram coletados na zona entre marés na gamboa do Rio Perequê localizado na Baía de Paranaguá, litoral do Paraná (23°31'49"S; 48°30'43"W), transferidos em caixas térmicas para laboratório e mantidos vivos em placas de Petri em água do local da coleta.

Vinte e cinco indivíduos adultos foram utilizados em cada um de sete tratamentos, com distintas rotinas de anestesia e fixação:

1 - espécimes não anestesiados e fixados diretamente em formol diluído a 4% em água do mar;

2 - espécimes não anestesiados e fixados diretamente em formol diluído a 4% em água doce;

3 - espécimes anestesiados com mentol (0,2 mg) e fixados em formol diluído a 4% em água do mar;

4 - espécimes anestesiados com mentol (0,2 mg) e fixados em formol a 4% em água doce;

5 - espécimes anestesiados com cloreto de magnésio a 8 % em água do mar e fixados em formol a 4% com água do mar;

6 - espécimes anestesiados com cloreto de magnésio a 8 % em água doce e fixados com formol a 4% com água doce;

7 - espécimes vivos anestesiados com mentol em água salgada, em tratamento considerado como controle.

Um controle verdadeiro seria dado por organismos mantidos em água do mar e não submetidos a anestésicos. No entanto, a elevada mobilidade dos animais impossibilitou a tomada de medidas *in vivo*.

O tempo de anestesia variou de 3 horas em mentol a 7 horas em cloreto de magnésio, seguindo-se imersão durante 48 horas no fixador. A seguir, os animais foram lavados e transferidos para álcool 70%, durante 24 horas, antes de serem medidos.

Espécimes fixados, provenientes de diversas localidades, apresentaram marcada variabilidade na largura relativa da região anterior, variando desde o tipo retilíneo (FIGURA 4A) até o tipo retilíneo (FIGURA 4B). Para avaliar a real origem destas variações, foram feitas medidas padronizadas da largura do peristômio e do setígero 6, excluídos os parapódios e as cerdas, sob microscópio estereoscópico com auxílio de uma lente ocular graduada. O grau de afilamento da região anterior foi estimado pela razão entre a largura do peristômio (P) e a largura do setígero 6 (S), que é proporcionalmente a mais afetada, segundo observações iniciais. Razões entre a largura do peristômio:largura do setígero 6 (P/S) próximas a 1 indicam indivíduos com regiões anteriores mais retilíneas (FIGURA 4A), enquanto razões menores indicam indivíduos com a região anterior acuminada, ou seja, com setígero 6 mais largo que o peristômio (FIGURA 4B).

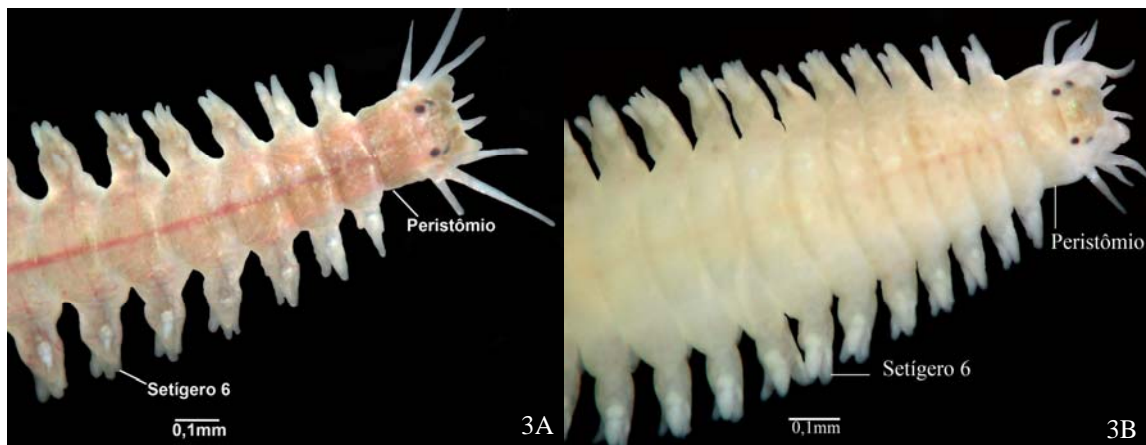


FIGURA 4 - *Laeonereis*. (A) Vista dorsal de animal vivo anestesiado (mentol em água do mar), com região anterior do corpo de formato retilíneo; (B) Vista dorsal de animal fixado em formol diluído a 4% em água doce e conservado em álcool a 70%, com região anterior do corpo de formato agudo ou afilado.

A significância dos efeitos dos tratamentos sobre a região anterior foi testada por uma análise de variância bi-fatorial (ANOVA). O desenho experimental considerou

como fatores fixos a *solução fixadora* (dois níveis: água doce/água do mar) e a *solução do anestésico* (três níveis: mentol, cloreto de magnésio e sem anestésico), além da interação entre os dois fatores fixos. A significância da interação entre os fatores permitiu checar a dependência entre o anestésico utilizado e a solução fixadora. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Bartlett, sendo as medidas transformadas para $\ln(x + 1)$ (Underwood, 1997). Um teste post-hoc do tipo LSD foi utilizado para discriminar as diferenças entre tratamentos.

Uma regressão linear foi utilizada para verificar os possíveis efeitos da fixação sobre a relação número de setígeros/comprimento dos indivíduos. Do total de 497 espécimes analisados foram tomadas 31 medidas dos espécimes completos, ou seja, sem rompimento do corpo e/ou ausência de estágio de regeneração da região posterior. A relação entre o comprimento total e o número de setígeros foi expressa pela equação linear " $y=a+bx$ ", onde " a " é o coeficiente linear, " b " é a expressão do coeficiente de alometria, " y " corresponde ao número de setígeros e " x " comprimento dos organismos. O valor de " b " permite determinar se a alometria é positiva, negativa ou se ocorre isometria, isto é, a proporção de x e y não altera o crescimento. A análise descrita foi acessada com a utilização do *software* R 2.6.1 (R Development Core Team, 2007).

4 RESULTADOS

4.1 - Variabilidade morfológica inter- e intrapopulacional

Indivíduos de todas as populações estudadas têm prostômio em forma de T invertido, com um par de palpos curtos, um par de antenas cirriformes frontais (curtas e separadas, tão compridas quanto os palpos ou às vezes pouco mais curtas do que o palpo) e dois pares de olhos dispostos em trapézio, o primeiro em forma de meia-lua e o segundo, esférico. O segundo par de olhos pode se apresentar perfeitamente visível ou semi-encoberto pelo peristômio, que pode se apresentar conspicuamente fino em relação aos segmentos anteriores ou apresentar largura semelhante aos demais. Quatro pares de cirros tentaculares estão presentes: o primeiro pode ser um terço mais curto que o par posterior ou apresentar comprimento similar, enquanto o segundo par

freqüentemente atingir o segundo setígero, porém os cirros dorsais podem atingir o terceiro e quarto setígero (FIGURA 5).

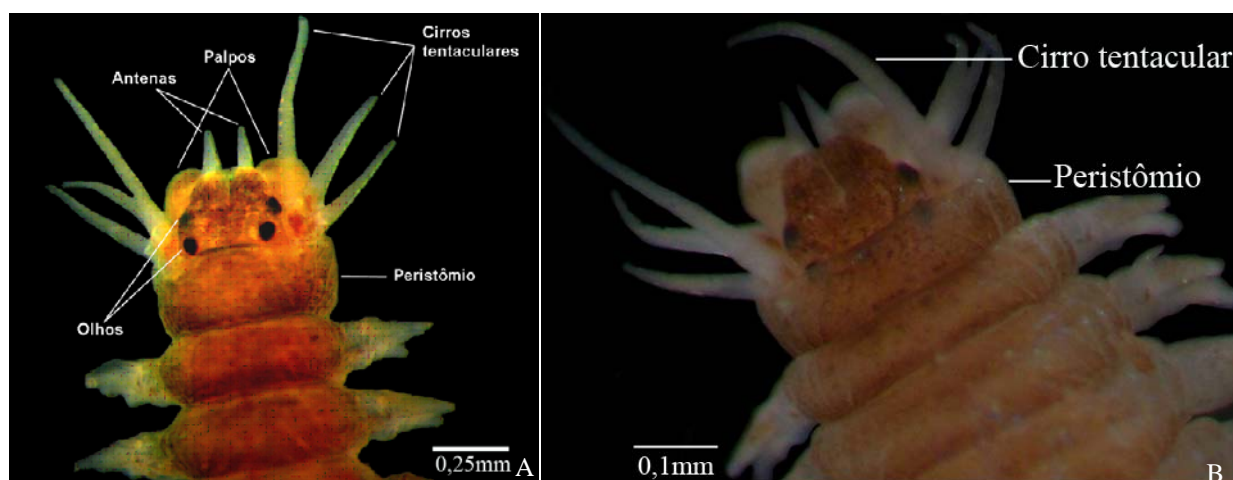


FIGURA 5 – Região anterior de *Laeonereis*. **A** – Animal com dois pares de olhos bem visíveis, diferenciação bem marcada entre prostômio e peristômio e cirros tentaculares dorsais atingindo o segundo setígero. **B** – Animal com o par de olhos posteriores semi-encobertos e cirro dorsal atingindo o terceiro setígero.

A probóscide é dividida em um anel distal e um anel oral. O anel distal apresenta tufo de papilas cônicas nas áreas I:3-11, II: 5-21, III: 1-11 e IV: 5-20, com um único tufo de papilas por área, exceto na área III, que contém três tufo enfileirados. O anel oral contém uma única papila cônica em cada uma das áreas VI; as papilas estão ausentes nas áreas V, VII e VIII (FIGURA 6 A, B e C). Não foram observadas variações na morfologia ou nas áreas de ocorrência das papilas proboscídias entre populações. O número de papilas, que admite ampla variabilidade em todas as áreas do anel maxilar, é uma função direta do tamanho dos organismos, chegando a triplicar ou quadruplicar em indivíduos adultos, padrão recorrente em todas as populações analisadas.

Cada mandíbula pode apresentar de 11 a 25 dentes, variação também diretamente relacionada com o tamanho dos organismos (FIGURA 6 D).

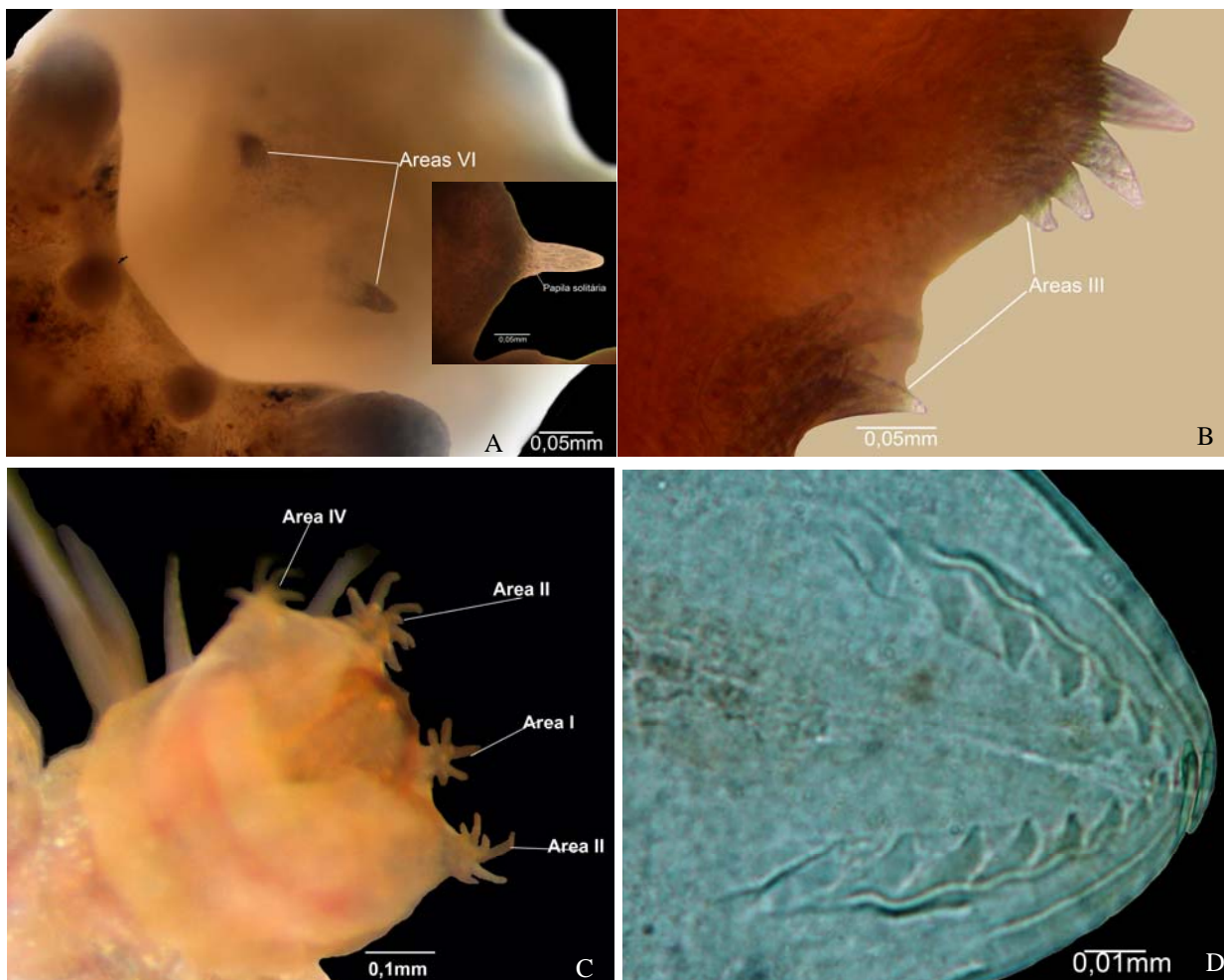


FIGURA 6 – Probóscide. Vista: A - antero-dorsal, B e C - antero- ventral, e D - distribuição dos dentes nas maxilas de *Laeonereis*

Os parapódios de *Laeonereis* têm cerdas espiníferas e falcíferas nos noto- e neuropódios de todos os setígeros (FIGURA 7A) e acículas com as extremidades curvadas (FIGURA 7B) desde os estágios larvais até aproximadamente o estágio de vinte e cinco setígeros (fase juvenil). Na fase adulta, cerdas espiníferas substituem as falcíferas nos neuropódios anteriores e medianos, permanecendo cerdas falcíferas apenas nos neuropódios posteriores (FIGURA 7C).

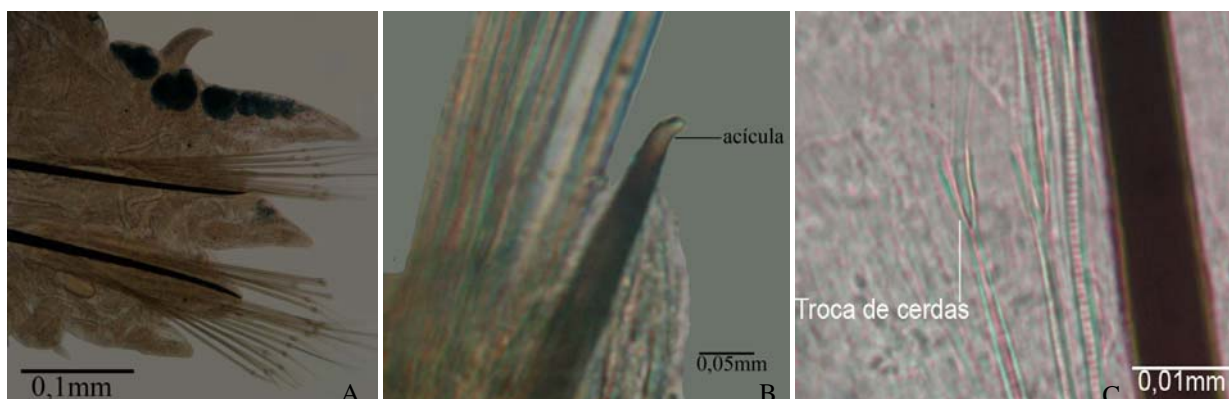


FIGURA 7 - Vigésimo quarto parapódio. A - Cerdas espiníferas, B - Formato da extremidade da acícula, C – Substituição de cerdas de *Laeonereis*.

A morfologia das estruturas parapodiais admite ampla variabilidade entre parapódios equivalentes, dentro de uma mesma população ou entre populações. Como exemplo, a morfologia dos cirros e língulas varia marcadamente no primeiro setígero. Cirros de base estreita e extremidade aguda e língulas de base larga e extremidade arredondada são encontrados nas populações de Connecticut, Amapá, Pará, Maranhão, Pernambuco, Sergipe, Rio Grande do Sul (Ilha das Pombas e Ilha da Pólvora) e Argentina (Mar del Plata e Puerto Madryn) (FIGURA 8A). Populações das duas regiões amostradas na Baía de Paranaguá também apresentam marcada variabilidade. No setor interno da baía, predominam indivíduos com cirros de base larga e extremidade arredondada, enquanto os indivíduos do setor externo têm cirros de base estreita e extremidade aguda. Esse formato também é dominante nas populações da Bahia, de Alagoas, Rio de Janeiro (Saquarema e Duque de Caxias), Santa Catarina e México (FIGURA 8A a D).

Por outro lado, foram observados cirros de base estreita e extremidade aguda e língulas com base larga e extremidade arredondada no quarto setígero de populações de Alagoas, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e do setor interno da Baía de Paranaguá. Nas outras populações amostradas predominam os cirros com base larga e extremidade arredondada e língulas de base larga e extremidade arredondada (FIGURA 8A a D). Já na região posterior do corpo, não foram observadas variações significativas nas estruturas parapodiais, geralmente em fase de formação.

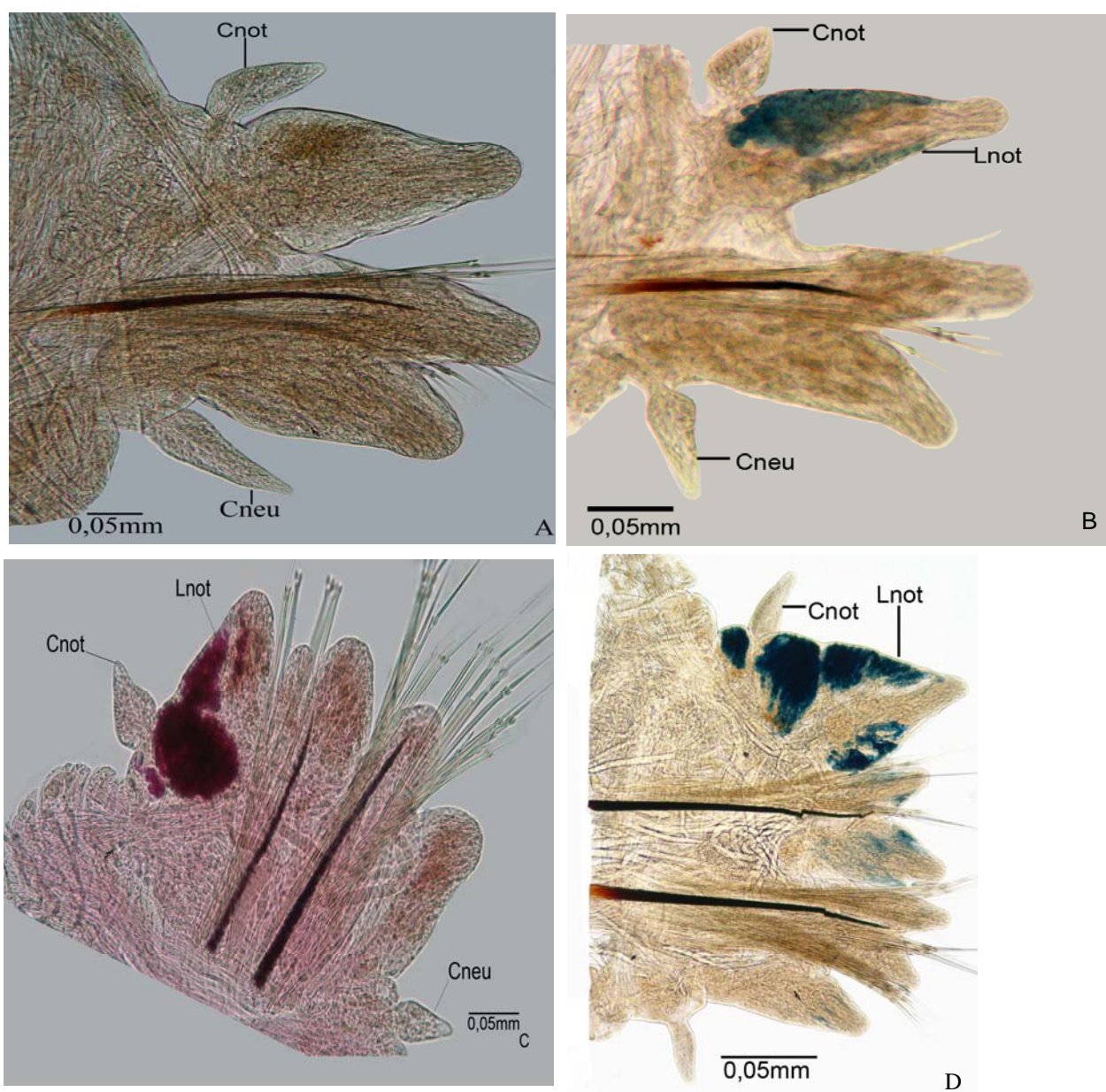


FIGURA 8 – Variações morfológicas nos cirros, lóbulos e língulas parapodiais. A. Primeiro parapódio: cirros noto- e neuropodial com base estreita e extremidade aguda, lóbulos e língulas com base estreita e extremidade arredondada; B. Primeiro parapódio: cirros noto- e neuropodial com base larga; C. Quarto parapódio: cirros com base larga e extremidade aguda e língula notopodial de base larga e extremidade arredondada; D. Quarto parapódio: cirro notopodial de base estreita e extremidade aguda e lóbulo e língula notopodial de base estreita e extremidade aguda.

A pigmentação do corpo varia de marrom claro a escura em material fixado, com maior concentração de pigmentos na região anterior. Indivíduos de algumas populações podem apresentar coloração escura ou negra. Apesar da pigmentação

mais escura, é sempre possível observar o aglomerado de glândulas nas língulas notopodiais, tal como descrito por Treadwell (1923).

4.2 - Variabilidade morfométrica

A análise de proximidade (nMDS) aplicada às estruturas parapodiais de populações de *Laeonereis* apresentou baixo valor de estresse (estresse 2-d de 0,13) indicando uma alta resolução (CLARKE & WARWICK, 2001; CHUI *et al.*, 2002). Nesta análise não foi observado qualquer padrão de agrupamento entre populações de áreas distintas ou qualquer *continuum* de variabilidade latitudinal ao longo da área de ocorrência (FIGURA 9). Exemplos de populações provenientes das áreas extremas de distribuição, caso de Connecticut, nos Estados Unidos, e das localidades da Argentina, ficaram bastante próximos.

Uma maior variabilidade foi encontrada nas populações ao largo da costa brasileira, com acentuada variação nas populações de Alagoas, Pernambuco, Maranhão e Saquarema, e uma tendência de agrupamentos das populações: Pará-Duque de Caxias (84%), Rio Grande do Sul-Amapá (75%), Alagoas-Bahia (74%), Rio Grande do Sul-Pará (72%), Alagoas-Amapá (71%), Setor interno_1 da Baía de Paranaguá-Pará (58%), (FIGURA 9). Apesar de não terem sido realizadas análises morfométricas das populações do México (cortes não autorizados), foi possível inferir por observações em animais completos que espécimes dessas localidades apresentavam padrão semelhante aos organismos de Mar del Plata.

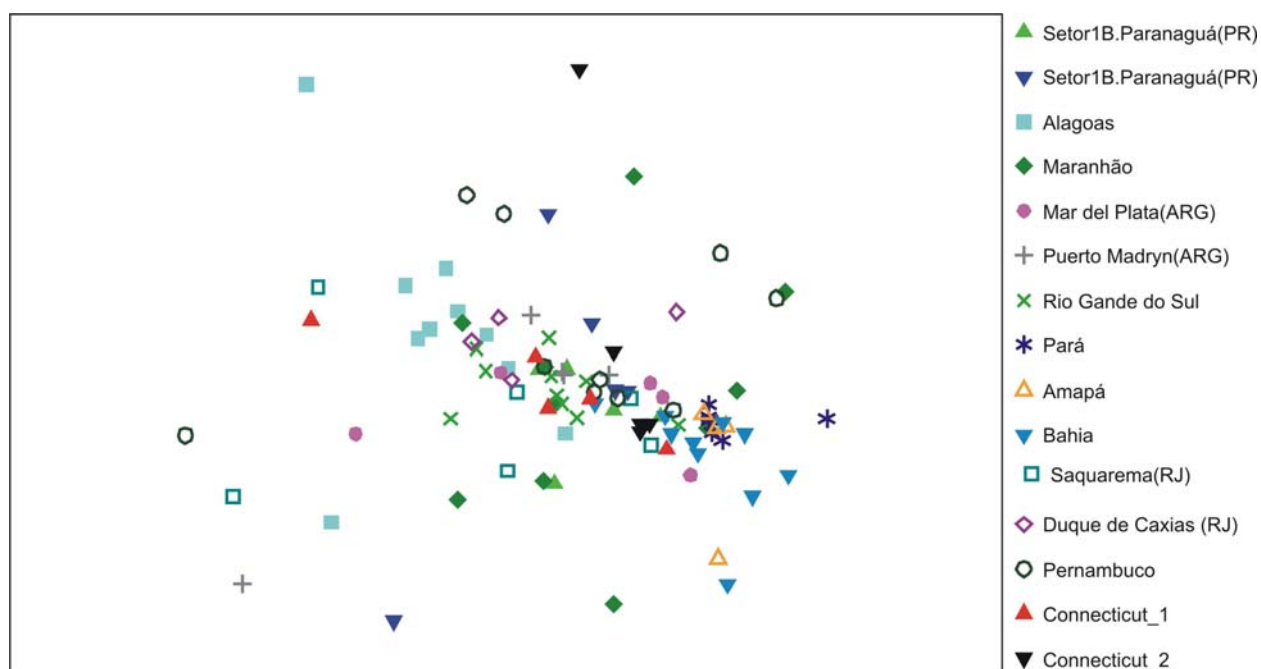


FIGURA 9 – Resultados da análise de escalonamento multidimensional (n-MDS) não-métrico aplicada às medidas parapodiais em quinze populações (estresse=0,13). B.Paranaguá=Baía de Paranaguá, PR=Paraná; ARG=Argentina; RJ=Rio de Janeiro; EUA=Estados Unidos da América.

O resultado da ANOSIM ($R_{\text{Global}} = 0,17$; Significância global= 0,1% e número de permutação=999) confirmou as tendências visuais da análise de proximidade. Neste teste, quanto mais próximo de zero estiver o valor de R , maior é a probabilidade de aceitação da hipótese nula, não existindo diferenças entre os grupos. Valores negativos também são possíveis, porém não são interpretáveis e devem ser tratados como zero. No presente estudo, não foi observada a completa separação ou junção das populações. Apesar da ampla variação dos caracteres populacionais, os testes de permutações apresentaram tendências à formação de um único agrupamento (ANEXO I).

4.3 - Variabilidade ontogenética

A partir das mudanças observadas nas estruturas de *Laeonereis* durante o desenvolvimento ontogenético, foi possível reconhecer as três fases de desenvolvimento, categorizadas por Mazurkiewicz (1975) como larvas, juvenis e adultos.

Estágio larval – A partir da embriogênese, os indivíduos eclodem como larvas com três setígeros, estágio que se prolonga até os sete setígeros. Ainda no estágio de três setígeros, inicia-se o processo de diferenciação dos palpos, de dois pares de olhos, um par de cirros tentaculares e um par de cirros pigidiais, e cerdas espiníferas e falcíferas ao longo do corpo. As larvas de *Laeonereis* com três setígeros já apresentam dois pares de olhos, que podem, no entanto, ser confundidos com um único par, como consequência da sobreposição em função dos efeitos de tratamentos de fixação.

Neste estágio as estruturas parapodiais encontram-se ainda em formação, com ausência da lígula notopodial em todos os setígeros.

Estágio juvenil – Os animais atingem este estágio com sete a oito setígeros, e a partir de trinta chegam à idade adulta. Nesta fase é possível observar o início de formação dos tufo de papilas e o completo desenvolvimento dos dois pares de cirros tentaculares e das lígulas notopodiais. Com aproximadamente vinte e cinco setígeros, ocorrem claras mudanças na natureza e disposição das cerdas. Nos estágios larvais e juvenis não foram observadas variações no formato dos cirros e lígulas, que só se tornam aparentes nos indivíduos adultos. A morfologia dos cirros e lígulas é estabelecida na transição do estágio juvenil para adulto (FIGURA 10), padrão recorrente nas populações do Paraná e São Paulo.

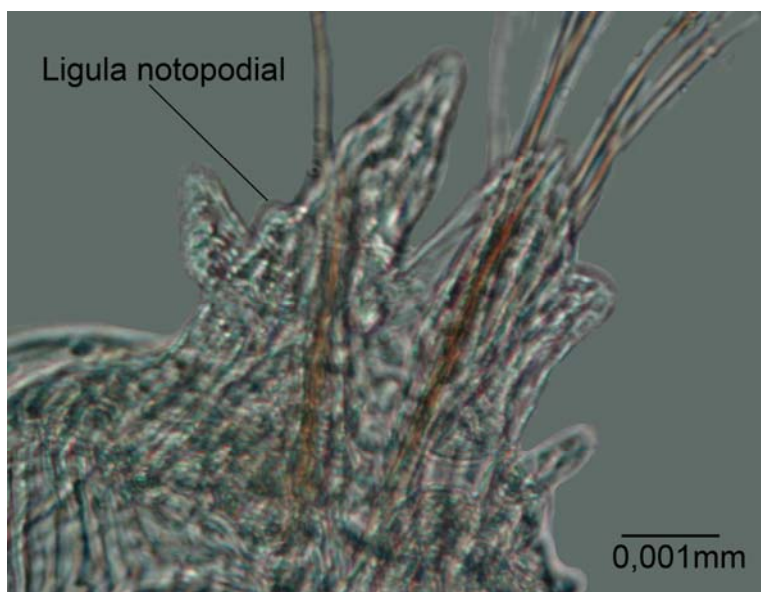


FIGURA 10 – Juvenil com quinze segmentos. Parapódio 5, com desenvolvimento inicial da lígula notopodial.

Estágio adulto – Todas as estruturas prostomiais e peristomiais já estão bem definidas. No início da fase adulta, as lígulas notopodiais dos parapódios ainda se encontram ausentes a partir da região mediana. Da mesma forma, os tufo de papilas ainda não atingiram seu completo desenvolvimento. Os parapódios posteriores dos indivíduos adultos estão sempre em fase de desenvolvimento.

Não foram observadas variações no local de ocorrência e na disposição das papilas probosciciais nas distintas áreas da probóscide, ao longo do desenvolvimento. Por outro lado, o número de papilas admite ampla variabilidade em todas as áreas da probóscide, chegando a triplicar ou quadruplicar em animais adultos. A única exceção está na área VI, que mantém uma única papila durante todo o processo de crescimento. O número de papilas é, portanto, uma função direta do tamanho dos organismos, assim como o número de dentes nas mandíbulas.

A progressiva substituição de cerdas notopodiais falcíferas por espiníferas foi observada em adultos de todas as áreas estudadas, embora larvas e juvenis só tenham sido sistematicamente observados em populações de São Paulo e Paraná. A troca de cerdas ocorre nos estágios de três a vinte e cinco setígeros (FIGURA 11A e 11B). Nos indivíduos adultos os setígeros da região anterior permanecem com cerdas espiníferas e os posteriores continuam em processo de trocas de cerdas falcíferas por espiníferas.

Em geral, lígulas e cirros neuropodiais não apresentam forma definida nos estágios iniciais de desenvolvimento, assemelhando-se a simples protuberâncias, cujo formato varia acentuadamente no decorrer do crescimento (FIGURA 11C).

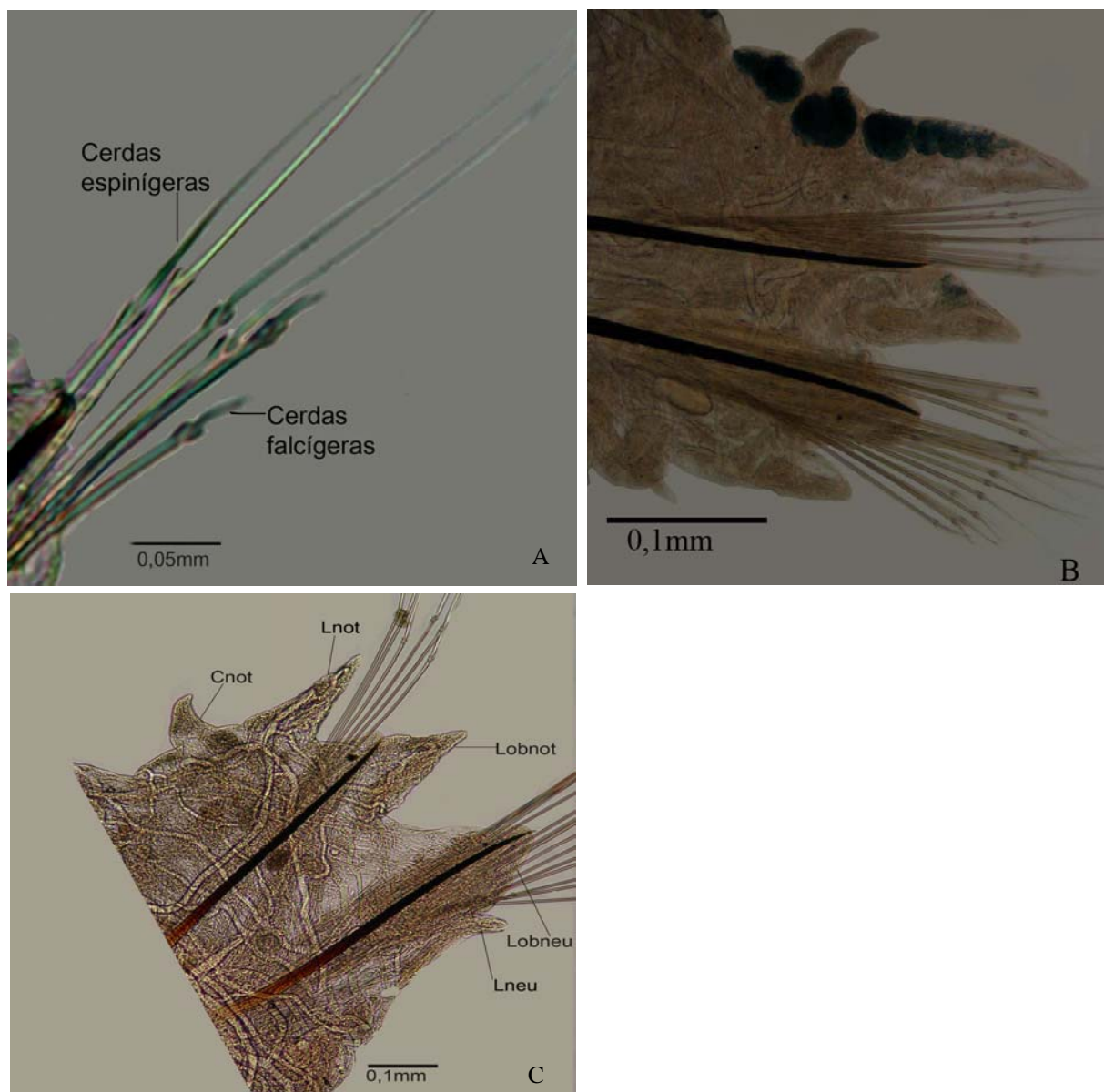


FIGURA 11 – A: Cerdas espiníferas e falcíferas de setígero posterior. B. Parapódio 24 - setígeros posteriores de organismos adultos com troca de cerdas. C Parapódio 65 - desenvolvimento dos lóbulos neuropodiais em organismo adulto,

As eventuais variações no comprimento relativo de cirros, língulas e lóbulos notopodiais na parte posterior resultam de crescimento alométrico durante o desenvolvimento. Esse crescimento desigual também pode ser observado em

parapódios pré-pigidiais, que pode se estender a uns quinze setígeros posteriores ou mais durante processos de regeneração. Já nos indivíduos em fase de crescimento normal, esse tipo de desenvolvimento encontra-se em uma área mais restrita. Cirros e lóbulos notopodiais surgem primeiro, com a lígula notopodial surgindo secundariamente (FIGURA 12A a D).

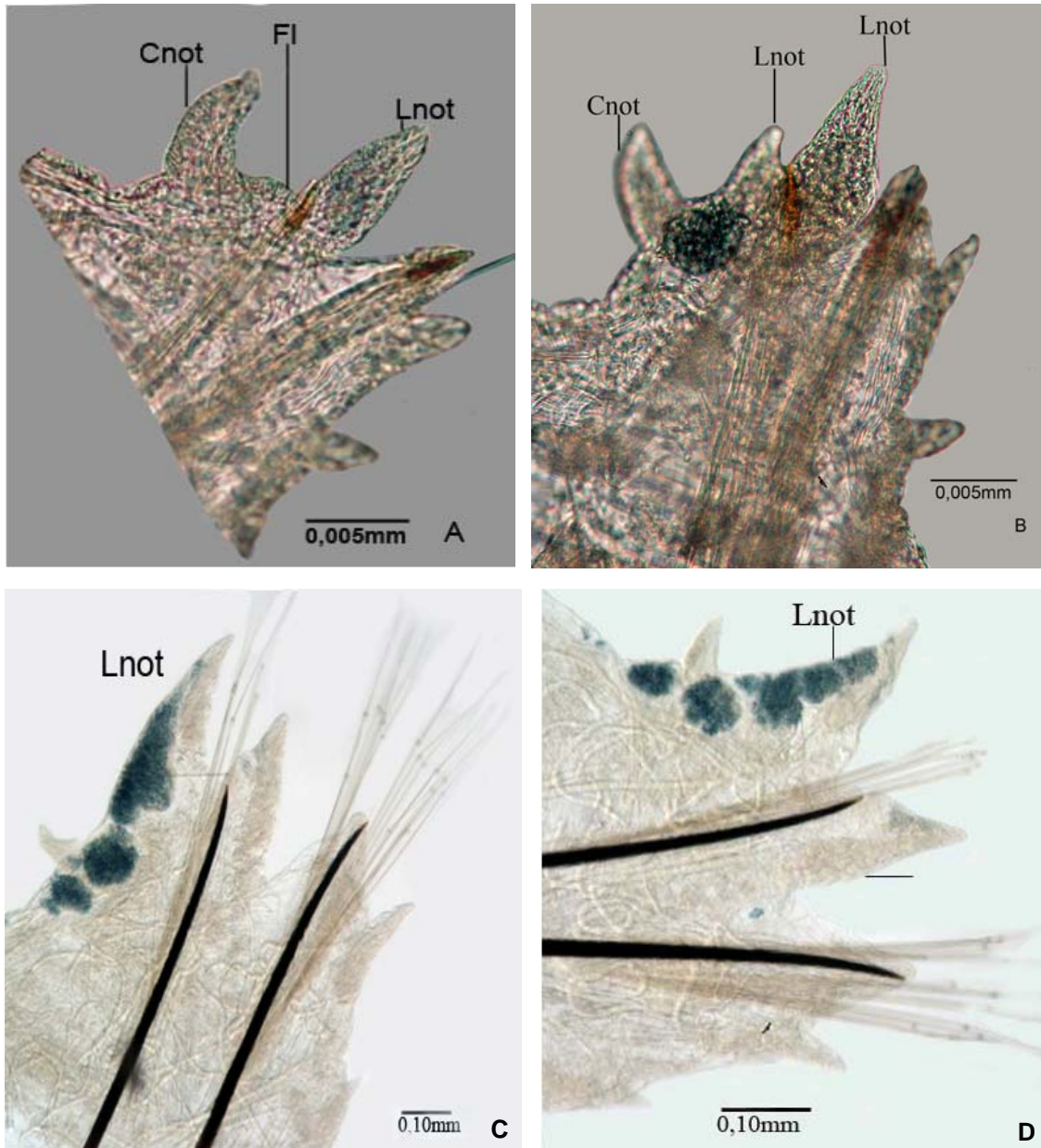


FIGURA 12– Sequência do crescimento alométrico das lígulas notopodiais dos parapódios posteriores de *Laeonereis*. A: parapódio 117, B: parapódio 114, C: parapódio 75, D: parapódio 55.

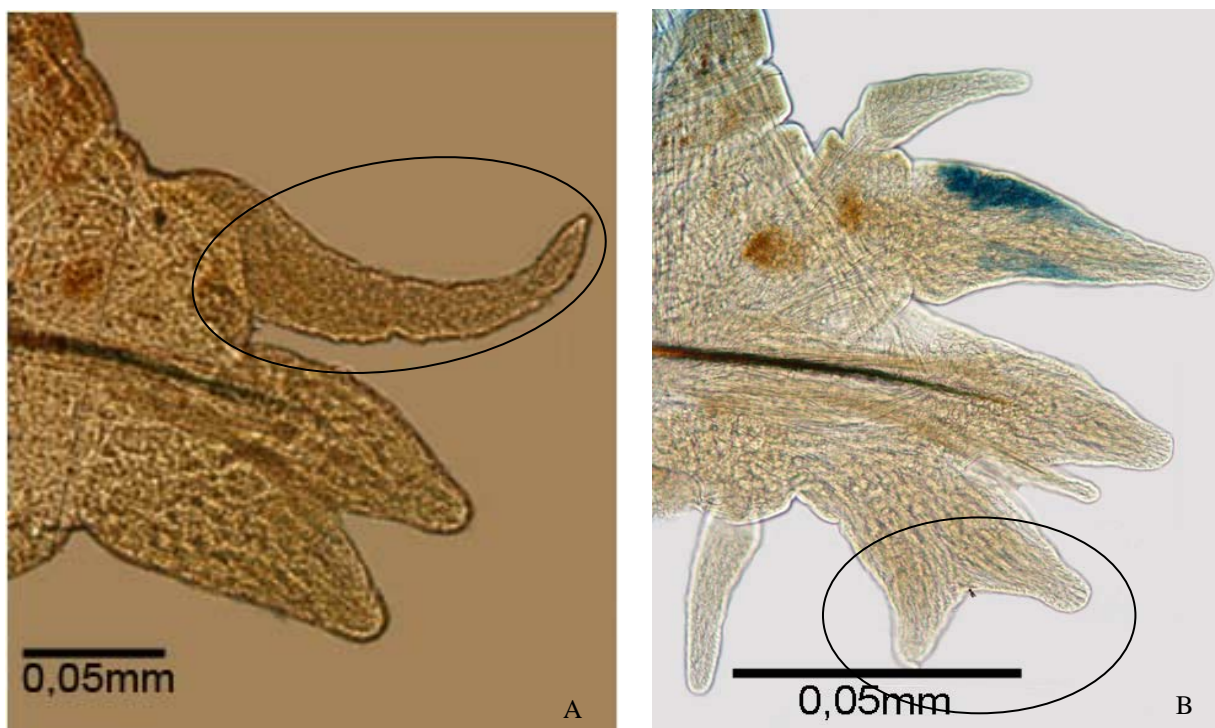
4.4 - Variabilidade por malformação

As populações de *Laeonereis* têm ampla distribuição geográfica, ocupando habitats muito variados e apresentando ampla tolerância a variações de temperatura e salinidade. Ocorrem com frequência em ambientes poluídos por esgotos domésticos, atividades industriais ou portuárias, chegando mesmo a ser tratadas como indicadoras de poluição.

Malformações ou anomalias de desenvolvimento foram observadas em parapódios de *Laeonereis* provenientes de áreas moderada a fortemente poluídas por esgoto doméstico ou atividades portuárias, ao longo de todo o amplo gradiente de distribuição latitudinal.

93 dos 459 indivíduos provenientes de 6 das populações examinadas (México – 85 exs; Pará 22; Alagoas 139; Pernambuco 32; Paraná 93; Argentina 88) apresentaram anomalias. 14,11% dos organismos provenientes do México e 6,81% da Argentina também apresentavam anomalias. A incidência de anomalias foi maior em populações da costa brasileira: 38,96% no Pará, 20,14% em Alagoas, 9,37% em Pernambuco e 37,67% no Paraná.

As anomalias mais comuns foram hipertrofia dos cirros e lóbulos dorsais, o desaparecimento de línguas dorsais e eventual bifurcação de cirros, línguas e lóbulos. Com menor frequência foram observados pigídios fendidos ventralmente e hematomas (FIGURA 13A a F).



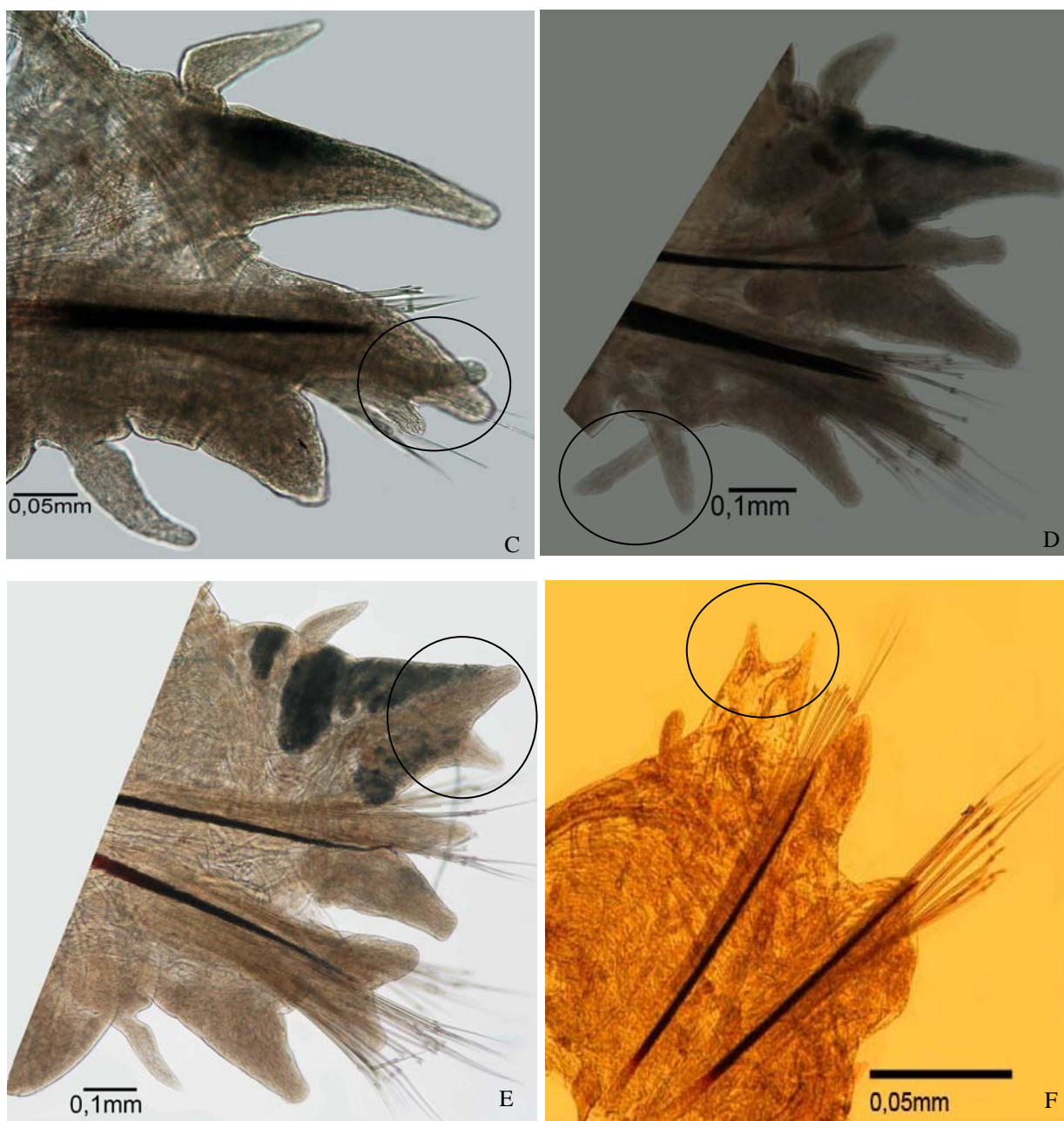


FIGURA 13 – Malformações morfológicas nos parapódios de *Laeonereis*. **A.** Primeiro parapódio - cirro hipertrofiado e ausência de lígula, **B.** Primeiro parapódio - lóbulo neuropodial bifurcado, **C.** Primeiro parapódio - lóbulo pré-setal bifurcado, **D.** Quarto parapódio - cirro neuropodial bifurcado, **E.** Quarto parapódio - lígula notopodial bifurcada e **F.** Vigésimo quarto parapódio - lígula notopodial bifurcada.

4.5 – Variabilidades morfológicas causada por rotinas de fixação e conservação

Após anestesia e fixação, os animais foram classificados de acordo com o formato geral da região anterior como do tipo retilíneo, intermediário ou agudo.

As larguras do peristômio e do setígero 6 foram sempre similares nos animais do tratamento controle, indicando que o formato retilíneo é de fato o usual *in vivo*.

Houve diferenças significativas entre os tratamentos e o controle, com exceção dos animais anestesiados com mentol e fixados em formol salino (Fig. 13, $F=121,4$; $p<0,05$). A razão P/S, que define o formato acuminado ou retilíneo da região anterior, foi significativamente menor nos animais fixados diretamente em formol a 4% com água doce e naqueles anestesiados com cloreto de magnésio e fixados em formol a 4% com água doce.

No tratamento sem anestésico ambas as soluções fixadoras causaram um aumento da largura do setígero 6, em função da contração muscular, que reduziu a razão P/S, enquanto que nos tratamentos com anestésico a solução fixadora causou um menor alargamento do setígero 6. As maiores alterações foram observadas nos tratamentos com água doce e sem anestesia, possivelmente como resultado de choque osmótico (FIGURA. 14).

As diferenças observadas na razão P/S foram igualmente significativas para a interação entre os fatores Solução fixadora*Solução do anestésico ($F=3,364$; $p<0,05$). Animais não anestesiados e fixados diretamente no formol em água doce ou do mar apresentaram a região anterior com formato acuminado, enquanto os animais anestesiados com cloreto de magnésio em solução preparada com água doce/mar apresentaram o formato intermediário. Já os animais apenas anestesiados com mentol (tratamento controle) e posteriormente fixados em formol salino apresentaram a região anterior mais retilínea (FIGURA 14).

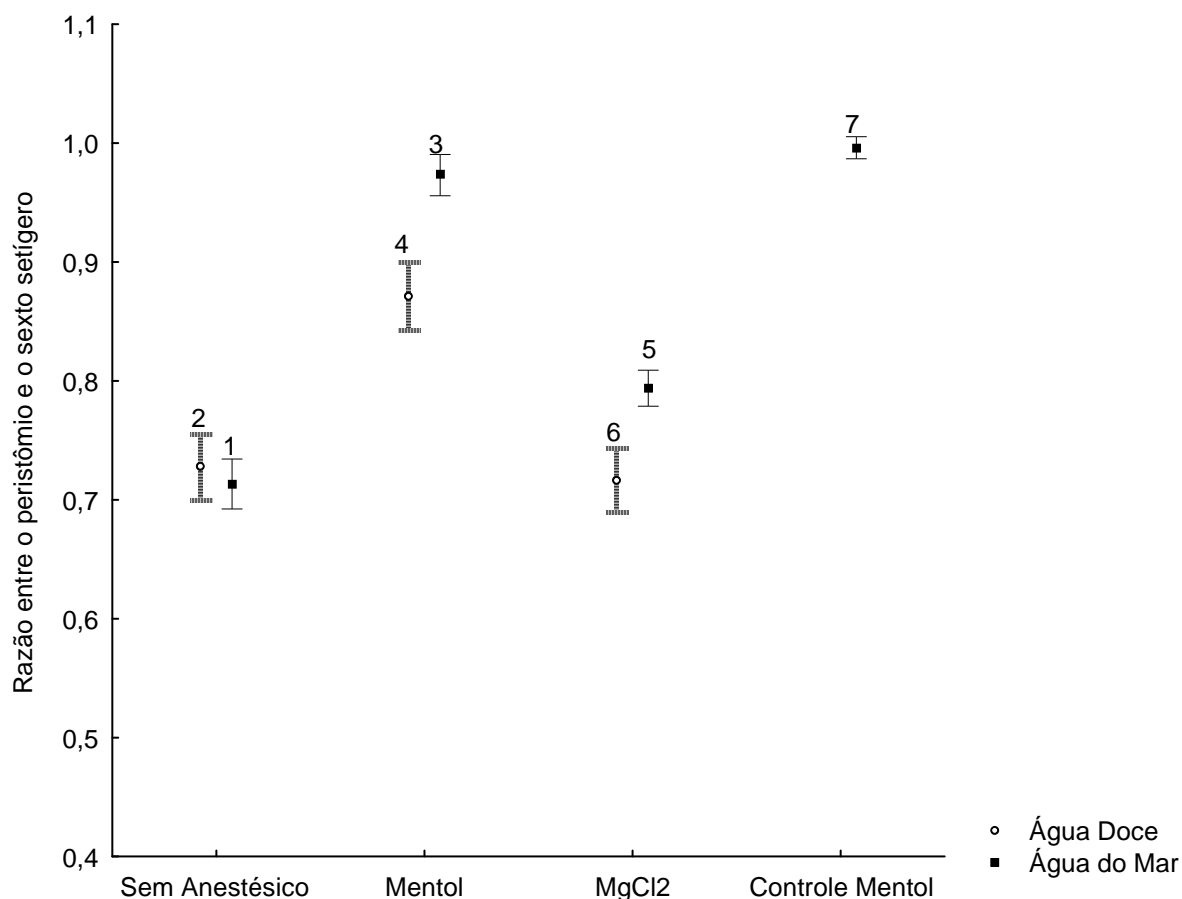


FIGURA 14 - Variações da razão P/S (largura do peristômio:largura do setígero 6) em indivíduos de *Laonereis* medidos sem anestésico fixados em formol salino (1) e em água doce (2), anestesiados com mentol e fixados em formol salino (3) e em água doce (4), anestesiados com cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e fixados em formol salino (5) e em água doce (6) e anestesiados com mentol em água salgada (controle) (7).

O formato acuminado ou afilado da região anterior deriva da contração geral do corpo e da retração da probóscide em animais fixados sem anestesia (FIGURA 15 A e B). De fato, a probóscide retraída ultrapassa ligeiramente o setígero 3 em organismos vivos, mas pode ultrapassar o setígero 6 em animais fixados em decorrência da contração dos segmentos anteriores, processo que pode se estender até o setígero 10. Estas rotinas inadequadas de fixação forçam o estreitamento do prostômio, peristômio e dos primeiros setígeros. Organismos vivos ou apenas anestesiados têm o prostômio e o sexto setígero com larguras equivalentes.

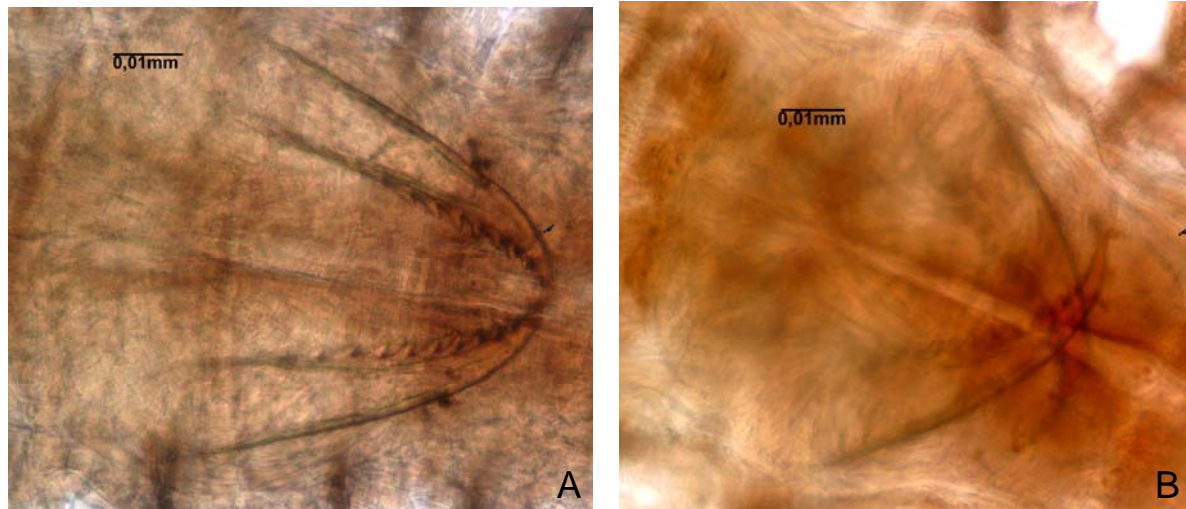


Figura 15 – Efeito dos tratamentos de anestesia e fixação na posição das mandíbulas de *Laeonereis*: A. Animal anestesiado com mentol e fixado em água salgada e B. Animal fixado diretamente no formol em água doce.

A correlação entre o comprimento do corpo e o número de setígeros foi baixa ($r=0,56$) com marcada variabilidade causada pelo encurtamento associado à fixação (FIGURA 16).

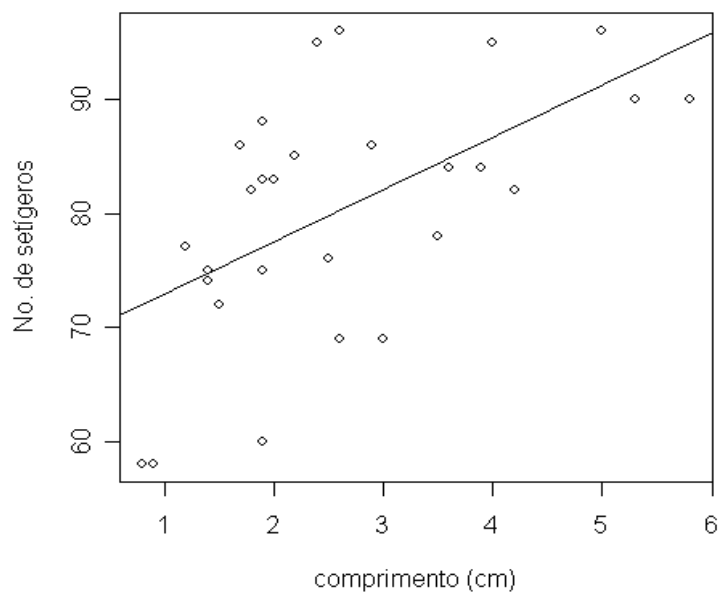


FIGURA 16 - Regressão linear entre comprimento total e número de setígeros em espécimes de *Laeonereis*.

5 DISCUSSÃO

5.1 - Variabilidade morfológica inter- e intrapopulacional

As populações estudadas de *Laeonereis* apresentam um elevado polimorfismo intra-específico, sem um padrão geográfico ou latitudinal definido.

A variação no número de dentes na mandíbula e número de papilas por tufos na probóscide depende do tamanho dos espécimes, estabilizando-se na fase adulta. A única exceção está na área VI, que mantém uma única papila durante todo o processo de crescimento. A presença de papilas é uma sinapomorfia compartilhada por vários gêneros da família Nereididae, enquanto a distribuição de papilas em tufos em todo anel maxilar da probóscide pode ser considerada uma autapomorfia do gênero *Laeonereis*, já que espécies de *Tylonereis* (FAUVEL, 1911) contém, além de tufos, fileiras de papilas distribuídas nas áreas do anel maxilar, como referido para *T. bogoyawlensky*. *Tylonereis heterochaeta* apresenta tufos de papilas na área VI do anel oral. Por outro lado, as manchas glandulares dos parapódios descrita por Treadwell (1923) são uma característica compartilhada com o gênero *Nicon* (SANTOS *et al*, 2005). A variabilidade de estruturas proboscídias como número de paragnatas já havia sido relacionada ao desenvolvimento para *Hediste diversicolor*, *Nereis virens* e *Allita succinea* (= *Neanthes succinea*) (MUUS, 1975).

As variações fenotípicas podem ser fortemente influenciadas pelas características do meio. A elevada variabilidade morfológica dos cirros e lígulas, recorrente em todas as populações, mas sem padrões claramente definidos, está provavelmente regulada por fatores ambientais. Segundo Eckelbarger & Young (2002), a variação na morfologia de estruturas envolvidas na respiração, como é o caso dos apêndices parapodiais achatados ou foliáceos, pode estar relacionada à maior ou menor disponibilidade de oxigênio, como uma adaptação fisiológica ao meio. Polimorfismos desta natureza já foram relatados em outros grupos de poliquetas, como é o caso das brânquias hipertrofiadas de Orbiniidae, aparentemente para facilitar as

trocas gasosas. Também foram detectadas variações morfológicas nas brânquias de *Prionospio* e de espécies de Cirratulidae de ambientes hipóxicos e com muita matéria orgânica (LAMONT & GAGE, 2000). Variações desta natureza são também observadas em outros invertebrados, como é o caso do número de segmentos de *Strigamia marítima* (Chilopoda; Myriapoda); este tipo de polimorfismo ecofenotípico está diretamente relacionado com a distribuição latitudinal (ARTHUR, 2000).

Todas estas evidências suportam a hipótese de que a elevada variabilidade encontrada na morfologia nas estruturas parapodiais de populações de *Laeonereis* está relacionada com as condições ambientais prevalentes. Pode ser regulada por poluição, eutrofização, variação geográfica e/ou adaptação para a vida tanto em ambientes euhalinos como oligohalinos, já que não se conhecem os mecanismos morfo-fisiológicos utilizados por esses organismos para ocupar diversos ambientes. Apesar desta plasticidade morfológica, as populações mantêm uma série de características diagnósticas estáveis, que possibilitam a identificação em nível específico. No entanto, esta ausência de homogeneidade morfológica pode dificultar a identificação taxonômica por não-especialistas.

5.2 - Variabilidade morfométrica das estruturas parapodiais

Segundo Garraffoni & Camargo (2007), análises morfométricas têm como principal objetivo estabelecer e delimitar variações morfológicas existentes nas distintas partes de uma estrutura como primeiro passo para a inferência de homologias. Têm sido usadas como um instrumento no avanço do estudo da forma dos organismos com variações no crescimento alométrico, evolução, ecofenótipo e ecomorfologia para melhor reorganizar os táxons (WHEELER, 2008). Neste sentido, são uma importante ferramenta para chegar a um melhor entendimento das modificações e variações ocorridas na morfologia dos organismos, para o melhor entendimento da evolução e das interações entre fenótipos, genótipos e ambiente na definição de diferentes padrões (MONTEIRO, *et al.*, 2002).

No presente trabalho, a análise morfométrica das estruturas parapodiais mostrou-se eficiente para a avaliação de variações nos comprimentos das projeções parapodiais, língulas e lóbulos. Não foram evidenciados padrões de agrupamento ao longo do gradiente latitudinal ou mesmo dentro das populações, reforçando assim os resultados da análise morfológica inter- e intrapopulacional. Não foram reconhecidos

agrupamentos definidos de populações, tendo sido mesmo observada uma tendência a uma maior semelhança entre populações distantes do que entre populações geograficamente próximas. Esse resultado contrapõe-se ao padrão de variabilidade sugerido por Orensanz & Gianuca (1974), que justificaria a validade da espécie *acuta* entre Santos (BR) a Península Valdez (Argentina).

Por outro lado, no caso de *Laeonereis*, não são recomendadas análises morfométricas baseadas no comprimento total dos indivíduos fixados, medida fortemente afetada pela contração muscular após fixação. Diferentes tratamentos de fixação aplicados a uma espécie da família Sabellidae causam distensão corporal (COSTA-PAIVA *et al.*, 2007), enquanto um processo inverso, de forte contração, ocorre em *Laeonereis* e com alguns tratamentos em Sabellidae. Este trabalho desaconselha a utilização de medidas de comprimento para estimar os diversos estágios de vida dessa espécie, em função da baixa correlação entre comprimento e número de setígeros. Estes resultados contrapõem-se aos trabalhos de Gudmundsson (1985) e MacCord (2005), que consideraram o comprimento total como um bom parâmetro para análise morfométrica. O número total de setígeros seria de fato a ferramenta ideal para estimar o tamanho dos indivíduos, segundo Richards (1970) e Levin & Huggett (1990). No entanto, é importante ressaltar a dificuldade de obtenção de espécimes inteiros em consequência do processo de autotomia ou perda por predação, muito freqüente em Nereididae (DESROSIERS *et al.*, 1988; GILLET, 1990).

Na ausência de análises filogenéticas moleculares, estes resultados fornecem uma primeira base para o entendimento da variabilidade morfológica de *Laeonereis* ao largo da costa atlântica das Américas. Há de fato um marcado polimorfismo nas populações referidas ao gênero, provavelmente condicionado por fatores ambientais que afetam as estruturas mais expostas dos organismos, como estruturas envolvidas na respiração. Segundo Klingenberg (2002), a variação fenotípica pode ser o início do desenvolvimento evolutivo que leva a um processo de especiação, processo a ser confirmado por futuras análises moleculares.

No presente caso, análises morfológicas convencionais e análises morfométricas foram utilizadas para avaliar se esta variabilidade justificaria a manutenção de *L. culveri* e *L. acuta* como espécies válidas (ORENSANZ & GIANUCA, 1974; OMENA & AMARAL, 2001; SANTOS & LANA, 2001; SANTOS *et al.*, 2003; GERACITANO *et al.*, 2002; GERACITANO *et al.*, 2004; MACCORD, 2005; PAMPLIN *et*

al., 2007). A falta de padrões consistentes de variabilidade morfológica colocam claramente em dúvida a validade da espécie-júnior, *Laeonereis acuta*.

5.3 - Variabilidade ontogenética

As populações de *Laeonereis* se reproduzem em estado átoco, com desenvolvimento larval bentônico e supressão da larva trócofora. A partir da embriogênese, os indivíduos eclodem como larvas com três setígeros, estágio que se prolonga até os sete setígeros. Com sete e oito setígeros, as larvas atingem o estágio juvenil, e a partir de trinta setígeros, a idade adulta (MAZURKIEWICZ, 1975).

A presente análise complementa estas descrições do desenvolvimento ontogenético. A supressão da trocófora traz como consequência o atraso no desenvolvimento da locomoção ciliar, que não aparece antes do estágio larval com três setígeros. A perda de ciliação para locomoção em *Laeonereis* contrasta com outras espécies da família Nereididae que desenvolvem cílios desde a gástrula até a trocófora (DURCHON, 1956).

A progressiva substituição das cerdas notopodiais durante o desenvolvimento é comum em larvas de alguns poliquetas, como Ampharetidae e Terebellinae (BHAUD & GRÉMARE, 1988; ZOTTOLI, 1974; GARRAFFONI, 2006). A substituição de cerdas falcígeras por espinígeras na transição de larvas para adultos ou em parapódios em regeneração parece recorrente em populações de *Laeonereis*, como evidenciado pelo presente trabalho e por Mazurkiewicz (2007).

Para fins taxonômicos, é importante considerar que a presença de cerdas falcígeras e espinígeras ao longo de todo o corpo é uma característica de larvas e juvenis. Já nos adultos, cerdas falcígeras e espinígeras estão restritas à porção posterior do corpo.

A uniformidade na morfologia dos cirros e lígulas, típica das formas larvais e do início da fase juvenil, é perdida em formas adultas. De fato, há uma marcada variabilidade morfológica das estruturas parapodiais durante a ontogenia de nereidídeos (BEN-ELIAHU, 1987). Tais transformações ontogenéticas também ocorrem em populações de *Laeonereis*, assim como o crescimento alométrico das lígulas e lóbulos notopodiais dos parapódios posteriores. Essas transformações dos lóbulos posteriores já haviam sido observadas em outras espécies da família Nereididae (BEN-ELIAHU, 1987). Neste sentido, o maior ou menor desenvolvimento

destas estruturas em crescimento não é um caráter diagnóstico ou taxonômico adequado. Mais uma vez, estas evidências conflitam com a proposta de Orensanz & Gianuca (1974) de separar espécies de *Laeonereis* com base na relação de comprimento entre lígulas notopodiais e lóbulos.

A variabilidade morfológica que validaria a espécie *Laeonereis brunnea*, segundo Dean (2001) não difere dos padrões aqui descritos para *Laeonereis culveri*, no que se refere ao número de papilas, tamanho dos cirros tentaculares dorsais e ausência de lígulas notopodiais nos parapódios posteriores. Por outro lado, a manutenção de *Laeonereis glauca* como espécie válida (ZLOBIN, 1994) é provavelmente um equívoco, já que esta espécie foi referida a *Websterinereis glauca* por Pettibone (1971), devido à ausência de papilas no anel oral e à presença de cerdas espiníferas e falcíferas heterogonfas.

Apesar das tendências contrárias ao reconhecimento de espécies cosmopolitas de poliquetas em águas rasas costeiras (PLEIJEL & ROUSE, 2005; BLEIDORN *et al.*, 2006), o gênero *Laeonereis* pode de fato ser considerado monoespecífico, com base na presente análise de variabilidade morfológica. Resultado semelhante foi encontrado para o orbiníideo *Proscoloplos cynochaetus*, com base também em uma reavaliação morfológica (WESTHEIDE *et al.*, 2003; MEYER *et al.*, 2008)

5.4 - Variabilidade por malformação

Populações de *Laeonereis* ocorrem com freqüência em ambientes poluídos por esgotos domésticos, atividades industriais ou portuárias. Alterações morfológicas como hipertrofia de cirros dorsais dos primeiros parapódios, bifurcações nas estruturas dos parapódios, hematomas e pigídio fendidos ventralmente provavelmente são reflexos da vida nestes ambientes contaminados. Já haviam sido descritas anomalias histológicas e morfológicas em populações de *Laeonereis* expostas a cobre em bioensaios laboratoriais (GERACITANO *et al.*, 2002; GERACITANO *et al.*, 2004; GERACITANO *et al.*, 2004). Estas evidências ecotoxicológicas chegaram mesmo a fundamentar sua utilização como bioindicadores de poluição em trabalhos de monitoramento ambiental.

As anomalias morfológicas dos parapódios de *Laeonereis* podem ter implicações taxonômicas, podendo igualmente levar a equívocos de identificação,

principalmente por não-especialistas. É importante ressaltar que alguns táxons da família Nereididae contêm estruturas parapodiais duplicadas, como é o caso dos cirros ventrais de *Micronereides* e *Tambalagamia* (SANTOS *et al.*, 2005). Este não é o caso de *Laeonereis*, que apresenta estruturas duplas apenas em função de malformações nos cirros, lígulas e lóbulos dos parapódios em habitats impactados. Malformações dessa natureza também já foram encontradas em outros poliquetas e até mesmo em hidróides com duplicação de opérculo (MOHAMMAD, 1981; BOTTO & IRIBARNE, 1999).

5.5 – Variabilidade causada por rotinas inadequadas de fixação e conservação

São poucos os estudos que avaliaram os efeitos das rotinas de fixação sobre a morfologia e morfometria de poliquetas. Mendez & Cardel (1994) mostraram que exemplares do poliqueta *Capitella capitata* submetidos a cinco diferentes tratamentos, envolvendo distintas concentrações de formaldeído e métodos de triagem, apresentaram contrações ou expansões do corpo. Glasby *et al.* (2003) relataram que fixação inadequada pode dificultar a identificação de *Namalycastis hawaiiensis* em função da posição dos olhos e morfologia do prostômio. Costa-Paiva *et al.* (2007) submeteram exemplares do sabelídeo *Branchiomma nigromaculatum* a tratamentos envolvendo diferentes técnicas de anestesia e fixação. Os indivíduos submetidos à fixação direta em etanol a 100 e 70 % e anestesiados com água doce apresentaram a forma mais próxima dos organismos *in vivo*. Por outro lado, espécimes submetidos a formol a 4% e refrigeração apresentaram contração resultando em corpos mais largos e curtos. Os espécimes submetidos ao mentol e cloreto de magnésio, anestésicos amplamente utilizados, apresentaram maior relaxamento e conseqüentemente corpos mais estreitos e achatados. Apenas três regiões não sofreram alterações com os tratamentos, a coroa radiolar, o primeiro setígero e o pigídio, sendo por isso consideradas como as mais informativas para estudos morfométricos.

Análises morfométricas de "*L. acuta*" sugeriram que as larguras dos setígeros 6 e 7 são as que melhor se correlacionam com o comprimento total dos animais (OMENA & AMARAL, 2001; MACCORD, 2005), por serem presumidamente pouco afetadas pelas mudanças na posição da probóscide durante a fixação. Esta argumentação é refutada pelos resultados da presente análise, que mostra

conclusivamente os efeitos das rotinas de anestesia e fixação sobre a região anterior dos animais. Para obtenção de medidas mais precisas de caracteres da região anterior de *Laeonereis* é recomendado que os animais sejam anestesiados com mentol e fixados em formol em meio salino, antes de sua eventual conservação em álcool.

Os presentes resultados ratificam a necessidade de se ter uma noção prévia da forma dos animais vivos para a definição das melhores técnicas de anestesia e fixação, antes da aplicação de análises morfológicas e morfométricas. Informações detalhadas sobre as rotinas de anestesia, fixação e conservação devem ser sempre fornecidas na literatura taxonômica e ecológica, como forma de amenizar os impactos destes artefatos de técnica.

6 CONCLUSÕES

A presente análise demonstrou de forma conclusiva o elevado polimorfismo de populações de *Laeonereis* distribuídas ao longo de um amplo gradiente latitudinal e de habitats muito variados. Este polimorfismo, que tem múltiplas causas, não segue padrões geográficos ou latitudinais definidos, sendo igualmente elevado entre ou dentro de populações aparentemente isoladas entre si. Apesar da elevada variabilidade morfológica, o gênero pode ser considerado morfológicamente bem definido por características diagnósticas estáveis, como é o caso da papilação proboscidual. A ocorrência de anomalias morfológicas em animais provenientes de áreas contaminadas por atividades portuárias ou esgotos domésticos tem importantes implicações práticas. Devem ser levadas em conta em levantamentos de cunho taxonômico ou estudos ecológicos, para evitar equívocos de identificação. Estas anomalias podem ser utilizadas como biomarcadores relevantes em trabalhos de avaliação de impactos e monitoramento ambiental.

Laeonereis culveri deve ser considerada a única espécie válida do gênero ao longo da costa atlântica das Américas, apesar da sua extensa distribuição geográfica. As populações estudadas não refletem quaisquer gradientes ou tendências geográficas de variabilidade morfológica. O afilamento da região anterior do corpo foi um dos critérios originalmente utilizados para a criação da espécie *L. acuta* (TREADWELL, 1923), assim como a variabilidade dos lobos parapodiais posteriores (ORENSANZ &

GIANUCA, 1974). A presente análise mostrou que as características parapodiais admitem ampla variabilidade intra-específica e que o afilamento da região anterior é claramente um artefato de técnica causado por rotinas inadequadas de fixação de material biológico. Neste contexto, *Laeonereis acuta* (TREADWELL, 1923) deve ser formalmente considerada sinônimo-júnior de *Laeonereis culveri* (WEBSTER, 1880).

Estas evidências devem ser confirmadas no futuro por análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos e moleculares. Da mesma forma, futuros estudos do gênero devem incluir a revisão das espécies *Laeonereis brunnea* Hartmann-Schröder, 1949, e *Laeonereis glauca* (CLAPARÈDE, 1870), descritas respectivamente na costa pacífica da Costa Rica e no Mediterrâneo.

REFERÊNCIAS

ARTHUR, W. (2000). Intraspecific variation in developmental characters: the origin of evolutionary novelties. **Am. Zool.**, Lawrence, v. 40, p. 811-818.

BANSE, K. (1977). Gymnonereidinae new subfamily: the Nereididae (Polychaeta) with bifid parapodial neurocirri. **J. Nat. Hist.**, London, v. 1, p. 609- 628.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. (1976). **Manual de técnicas para histologia normal e patologia**. São Paulo: Livraria e editora Ltda. p. 239.

BEN-ELIAHU, M. N. (1987). An approach to nereidid morphometric. **Biol. Soc. Wash. Bull.**, Washington, v. 7, p. 169-177.

BHAUD, M., GRÉMARE, A. (1988). Larval development of the terebellid polychaete *Eupolymnia nebulosa* (Montagu) in the Mediterranean Sea. **Zool. Scr.**, England, v.17 p.347-356.

BLEIDORN, C.; KRUSE, I.; ALBRECHT, S.; BARTOLOMAEUS, T. (2006). Mitochondrial sequence data expose the putative cosmopolitan polychaete *Scoloplos armiger* (Annelida, Orbiniidae) as a species complex. **BMC Evolutionary Biology**, United Kingdom, v.6, n. 47, p. 1-13.

BOOKSTEIN, F. L. (1982). Foundations of morphometrics. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, Palo Alto, v. 13, p. 451- 470.

BOTTO, F.; IRIBARNE, O. (1999). Effect of the burrowing crab *Chasmagnathus granulata* (Dana) on the benthic community of a SW Atlantic cpastal lagoon. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, Amsterdam, v. 241, p. 263-284.

CHIBIMBA, C. T.; NICO, J. D.; TERENCE, J. R. (1999). Morphometric and morphological delineation of southern African species of *Aethomys* (Rodentia: Muridae). **Biol. J. of Linn. Soc.**, London, v. 67, p. 501-527.

CHUI, Y. W.; CHEN, H. C.; LEE, S. C., CHEN, C. A. (2002). Morphometric analysis of shell and operculum variations in the viviparid snail *Chipangopaludina chinensis* (Mollusca: Gastropoda) in Taiwan. **Zool. Stud.**, Taiwan, v. 41, p. 321-331.

CLARKE, K. D.; WARWICK, R. M. (2001). **Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation**. Plymouth Marine Laboratory.

CLAUDE, J. (2008). **Morphometrics with R: Series: use R**. Springer. 330p.

COSTA-PAIVA, E. M.; PAIVA, P. C.; KLAUTAU, M. (2007). Anaesthetization and effects on the morphology of sabellid polychaetes (Annelida: Polychaeta: Sabellidae). **J. Mar. Biol. Assoc. U.K.**, Plymouth, v. 87, p. 1127-1132.

COSTA-PAIVA, E. M.; PAIVA, P. C. (2007). A morphometric analysis of *Eunice* Cuvier (Annelida, Polychaeta) species. **Rev. Bras. Zool.**, Curitiba, v. 24, p. 353-358.

DEAN, H. K. (2002). Some Nereididae (Annelida: Polychaeta) from the Pacific Coast of Costa Rica. **Rev. Biol. Trop.**, Costa Rica, v. 49, p. 37-67.

DEBAT, V.; BÉGIN, M.; LAGOUT, H.; DAVID, J. R. (2003). Allometric and nonallometric components of *Drosophila* wing shape respond differently to developmental temperature. **Evolution**, Washington, v. 57, n.12, p. 2773-2784.

DESROSIERS, G.; VICENT, B.; RETIÈRE, C. & BOUCHER, L. (1988). Comparaison de critères utilisables pour l'étude de la structure des populations du polychète *Nereis virens* (Sars). **Can. J. Zool.**, Canada, v.66, p. 1454-1459.

DONG, Q.; HUANG, C.; HENK, M. C. TIERSCH, T. R. (2006). Fixation methods can produce misleading artifacts in sperm cell ultrastructure of diploid and tetraploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. **Cell Tissue Res.**, New York, v. 324, p. 335-345.

DURCHIN, M. (1956). Mode de reproduction et développement de *Nereis* (*Ceratonereis*) *coastae*, Grube (Annelida, Polychaeta) à Alger. **Arch. Zool. Exp. Gen.**, Paris. v. 93, p. 57-69.

ECKELBARGER, K. J. YOUNG, C. M. (2002). Spermiogenesis and modified sperm morphology in the "seepworm" *Metranorhynchus dendrobranchiata* (Polychaeta: Orbiniidae) from a methane seep environment in the Gulf of Mexico: implications for fertilization. **Biol. Bull.**, Woods Hole, v. 203, p. 134-143.

FAUCHALD, K., JUMARS, P. (1971). The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. **Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.**, Washington, v.17, p. 193-284.

FAUCHALD, K. (1991). A morphometric study of eunicid polychaetes from Belize, Western Caribbean Sea. **Ophelia**, Dinmark, v. 5, p. 47-53.

FAUCHALD, K. (1997). The polychaete worms. Definitions and keys to the orders, families and genera. **Nat. Hist. Mus. Los Ang. Cty.**, Science Series, Los Angeles, 28: 188 p.

FAUVEL, P. (1911). Annélides polychètes du Golfe Persique recueillies par M. N. Bogoyawlensky. **Arch. Zool. Exp. Gen.**, Paris, v. 5, n. 6, p. 373-397.

FITZHUGH, K. (1987). Phylogenetic relationships within the Nereididae (Polychaeta): implications at the subfamily level. **Bull. Biol. Soc. Wash.**, Washington, v. 7, p. 174-183.

FRANKINO, W. A.; ZWAAN, B. J.; STEM, D.; BRAKEFIEL, P. M. (2007). Internal and external constraints in the evolution of morphological allometries in a butterfly. **Evolution**, Washington, p. 2968-2970.

GARDINER, S. L. (1992). Polychaeta: general organization, integument, musculature, coelom, and vascular system. In: **Microscopic anatomy of invertebrates** (Ed. F. W. Harrison). New York: Wiley-Liss Inc. p. 19-52.

GARRAFFONI, A. R. S. (2006). **Morfologia da região cefálica e dos uncini parapodiais, análise cladística e biogeografia da família Terebellidae (Annelida: Polychaeta)**. 153 f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GARRAFFONI, A. R. S.; CAMARGO, M. G. (2007). A new application of morphometrics in a study of the variation in uncinal shape present within the Terebellidae (Polychaeta): a reevaluation from digital images.. **Cah. Biol. Mar.**, v. 48, p. 229-248.

GERACITANO, L. A.; LUQUET, C.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. (2004). Histological and morphological alterations induced by copper exposure in *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae). **Mar. Environ. Res.**, Kindlington, v. 58, p. 263-267.

GERACITANO, L. A.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. (2004). Oxidative stress in *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae): environmental and seasonal effects. **Mar. Environ. Res.**, Kindlington, v. 58, p. 625-630.

GERACITANO, L. A.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. (2002). Physiological and antioxidant enzyme responses to acute and chronic exposure of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) to copper. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, Amsterdam, v. 277, p. 145-156.

GILLET, P. (1990). Biomasse, production et dynamique des populations de *Nereis diversicolor* (Annélide polychète) de l'estuaire de La Loire. **Oceanologica Acta.**, France, v.13, p.361-371.

GLASBY, C. J. (1993). Family revision and cladistic analysis of the Nereidoidea (Polychaeta: Phyllodocida). **Invertebr. Taxon.**, Australia. v. 7, p. 1551-1573.

GLASBY, C. (1999). The Namanereidinae (Polychaeta: Nereididae). Part 1. Taxonomy and phylogeny, Part 2 Cladistic Biogeography. **Rec. Aust. Mus. Suppl.**, Sydney, v. 25, 129 p.

GLASBY, C. J.; MOGI, M.; TAKAHASHI, K. (2003). Occurrence of the polychaete *Namalycastis hawaiiensis*, Johson, 1903 (Nereididae: Namanereidinae) in *Pandanus* leaf axils on Palau, West Pacific. **The Beagle, Records of the Museum and Art Gallery of the Northern Territory**. v. 19, p. 97-99.

GLASBY, C. J.; GLASBY, S. P.; PLEIJEL, F. (2009). Worms by number. **Proc. R. Soc. B.**, Australia, v. 275, p.2071-2076.

GUDMUNDSSON, H. (1985). Life history patterns of Polychaeta species of the family Spionidae. **J. Mar. Biol. Assoc. U. K.**, United Kingdom, v. 65, p. 93-111.

HARTMAN, O. (1945). **The marine annelids of North Carolina**. North Carolina: Duke University Press. v. 2, p. 1-52.

HYLLEBERG, J.; NATEEWATHANA, A. (1988). Polychaetes of Thailand. Nereididae (part 2): *Ceratocephale* and Gymnonereidinae. **Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull.**, Phuket, Thailand, v. 49, p. 1-20.

ITIS (2008). INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM.
http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=65964

JORDAENS, K.; VAN GONGEN, S.; VAN RIEL, P.; GEENEN, S. VERHAGEN, R. BACKELJAU, T. (2002). Multivariate morphometrics of soft body parts in terrestrial slugs: comparison between two datasets, error assessment and taxonomic implications. **Biol. J. Linn. Soc.**, London, v. 75, p. 291-308.

KLESCH, W. L. (1970). The reproductive biology and larval development of *Laeonereis culveri* Webster (Polychaeta; Nereididae). **Int. Mar. Sci.**, New York, v. 15, p. 71-85.

KLIGENBERG, C. P. (2002). Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of the developmental mechanisms. **Gene**, Madison, v. 287, p. 3-10.

LAMONT, P. A.; GAGE, J. D. (2000). Morphological responses of macrobenthic polychaetes to low oxygen on the Oman continental slope, NW Arabian Sea. **Deep-Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.**, Kidlington, v. 47, p. 9-24.

LATTIG, P.; SAN MARTÍN, G. MARTIN, D. (2007). Taxonomic and morphometric analyses of the *Haplosyllis spongicola* complex (Polychaeta: Syllidae: Syllinae) from Spanish seas, with re-description of the type species and descriptions of two new species. **Sci. Mar.**, Barcelona, v. 71, p. 551-570.

LEVIN, L. A. & HUGGETT, D. V. (1990). Implications of alternative reproductive modes for seasonality and demography in an estuarine polychaete. **Ecology**, Washington, v.71, p. 2191-2208.

LOPES, A. T. L. (1993). **Distribuição e densidade da macrofauna bentônica de substratos móveis do mesolitoral da Ilha de Cajual, município de Alcântara**. 63f. Monografia (Monografia de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Maranhão. São Luís- MA.

LOPES, A. T. L. (2003). **Estrutura das Comunidades de Organismos Bentônicos em Regiões Entre-Marés Utilizadas por Aves Limícolas Migratórias na Costa Norte do Brasil**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Pará. Pará.

MACCORD, F. S. (2005). **Dinâmica populacional e biologia reprodutiva de duas espécies de *Scolelepis* (Spionidae) e de *Laeonereis acuta* (Nereididae) (Annelida: Polychaeta)**. 130 f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MARBEF (2008). Marine species identification portal.
http://www.marinespecies.eu/species.php?species_group=Macrobenthos_polychaeta&menuentry=soorten&selected=beschrijving&id=970

MARTIN, J. W. (2004). Fixation versus preservation. **Nat. Hist. Mus. Los Ang. Cty.**, Los Angeles, n. v., p. 1-2.

MÉNDEZ, M. N.; CARDELL, M. J. (1994). Effects of sample fixation on body shape of *Capitella capitata* (Capitellidae). In: DAUVIN, J. C.; LAUBIER, L.; REISH, D. J. (Eds). **Actes de la 4^{ème} conférence internationale des Polychètes**. Paris: Mém. Mus. Natn. Hist. Nat., v. 162, p. 111-117.

MEYER, A.; BLEIDORN, C.; ROUSE, G. W.; HAUSEN, H. (2008). Morphological and molecular data suggest a cosmopolitan distribution of the polychaete *Proscoloplos cychaetus* Day, 1954 (Annelida, Orbiniidae). **Mar. Biol.**, Heidelberg, v.153. p. 879-889.

MONTEIRO, L. R.; DINIZ-FILHO, A. F., REIS, S. F., ARAÚJO, E. D. (2002). Geometric estimates of heritability in biological shape. **Evolution**. Washington, v. 56, p.563-572.

MAZURKIEWICZ, M. (1969). The synchrony of reproduction between a polychaete, *Laeonereis culveri* and its coelomic sporozoans. **Amer. Zool.**,v.9,p.1146.

MAZURKIEWICZ, M. (1975). Larval development and habitats of *Laeonereis culveri* (Webster) (Polychaeta: Nereididae).Connecticut. **Biol. Bull.**, Woods Hole, v. 149, p. 186-204.

MAZURKIEWICZ, M. (2007). The ontogeny of parapodia and setae in *Laeonereis culveri* (Nereididae). Abstract of the **9th International Polychaete Conference**. Maine, p.153, p.214.

MOHAMMAD, M. B. M. (1981). Malformations in some polychaete annelids from Kuwait, Arabian Gulf. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 78, p. 129-131.

MUUS, B. J. (1976). Some problems facing the ecologist concerning races and subraces of brackish-water animals. **Estuary**, California, p.558-563.

OMENA, E. P.; AMARAL, A. C. Z. (2000). Population dynamics and secondary production of *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923) (Nereididae: Polychaeta). **Bull. Mar. Sci.**, Lawrence, v. 67, p. 421-431.

OMENA, E. P.; AMARAL, A. C. Z. (2001). Morphometric study of the nereidid *Laeonereis acuta* (Nereididae: Polychaeta). **J. Mar. Biol. Assoc. U. K.**, United Kingdom, v. 81, p. 423-426.

ORENSANZ, J. M.; GIANUCA, N. M. (1974). Contribuição ao conhecimento dos anelídeos poliquetas do Rio Grande do Sul, Brasil. I. Lista sistemática preliminar e descrição de três novas espécies. **Comum. Mus. Cienc. FURG**, Porto Alegre, v. 4, p. 1-37.

PAMPLIN, P. A. Z.; ALMEIDA, T. C. M.; SILVA-FILHO, J. P. (2007). New Record of *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923) (Nereididae: Polychaeta) in Northeast coast of Brazil. **Biota Neotrop.**, Campinas, v.7, p. 353-355.

PALOMO, G.; BOTTO, F.; NAVARRO, D.; ESCAPA, M.; IRIBARNE, O. (2003). Does the presence of the SW atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* Dana affect predator – prey interactions between shorebirds and polychaetes?. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, Amsterdam, v. 290, p. 211-228.

PETTIBONE, M. H. (1971). Revision of some species referred to *Leptonereis*, *Nicon* and *Laeonereis* (Polychaeta: Nereididae). **Smithson. Contrib. Zool.**, Washington, v. 104, 53 p.

PLEIJEL, F.; DAHLGREN, T. (1998). Position and delineation of Chrysopetalidae and Hesionidae (Annelida, Polychaeta, Phyllodocida). **Cladistic**, New York, v.14, p. 129-150.

QIAN, P. Y. (1999). Larval settlement of polychaetes. **Hydrobiologia**, Netherlands, v. 402, p. 239-235.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. (2007) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RICHARDS, S. L. (1970). Spawning and reproductive morphology of *Scolelepis squamata* (Spionidae: Polychaeta). **Can. J. Zool.**, Canadá, 48. p. 1369-1370.

ROLF, F. J.; MARCUS, L. F. (2003). A revolution in morphometrics. **Trends. Ecol. Evol.**, St. Louis, v. 8, p. 129-132.

ROUSE, G. W.; PLEIJEL, F. (2000). **Polychaetes**. New York: Oxford University Press Inc. 354 p.

ROUSE, G. W.; FAUCHALD, F. (1997). Polychaete systematics: past and present. **Zool. Scr.**, England, v. 28, p. 71-138.

SALAZAR-VALLEJO, S.I. & LONDOÑO-MESA, M.H. (2004). Lista de especies y bibliografía de poliquetos (Polychaeta) del Pacífico Oriental Tropical. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología, Chetumal, v. 75, p. 9-97.

SANTOS, C. S. G.; LANA, P. C. (2001). Nereididae (Annelida; Polychaeta) da costa Nordeste do Brasil. II. Gêneros *Namalycastis*, *Ceratocephale*, *Laeonereis* e *Rullierinereis*. **Iheringia**, Sér. Zool., Porto Alegre, v. 91, p. 137-149.

SANTOS, C. S. G. (2001). **Revisão e análise cladística da subfamília Gymnonereidinae Banse, 1977 (Nereididae Polychaeta)**. 139f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SANTOS, P. J. P. ; FLORÊNCIO, M. S. ; FLORÊNCIO, M. A. P. (2003). Reproductive cycle of the polychaete *Laeonereis acuta* on a tropical intertidal sandy beach. **J. Cost. Res.**, Florida , v. 35, p. 378-384.

SANTOS, C. S. G.; PLEIJEL, F.; LANA, P. ROUSE, G. W. (2005). Phylogenetic relationships within Nereididae (Annelida: Phyllodocida). **Invertebr. Syst.**, London, v. 19, p. 557-576.

STRATHMANN, R. R. (1993). Hypotheses on the origins of marine larvae. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, Palo Alto, v. 24, p. 89-117.

THOMPSON, D. W. (1917). **On growth and form**. Cambridge University Press, Cambridge England. 1116p.

TREADWELL, A. L. (1923). Two new species of polychaetous annelids of the genus *Nereis* from Brazil. **Rev. Mus. Paul.**, São Paulo, v. 13, p. 1237-1243.

TUCKER, Jr. J. W.; CHESTER, A. J. (1984). Effects of salinity, formalin concentration and buffer on quality of preservation of Southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) larvae. **Copia**, [S.I.], Kansas, v. 4, p. 981-988.

UNDERWOOD, A. J. (2005). **Experiments in ecology: Their logical design interpretation using analysis of variance**. Cambridge University Press. 504 p.

ZOTTOLI, R. A. (1974). Reproduction and larval development of the Ampharetid polychaete *Amphicteis floridus*. **Trans. Amer. Micros. Soc.**, London, v.93. p.78-89.

ZLOBIN, N. Z. (1994). http://zipcodezoo.com/Animals/L/Laeonereis_glauca/.

WAYNE, J. (2004). **National Institutes of Health, USA**. Disponível em: <Http://rsb.info.nih.gov/ij/. **Java 1.5.0_09** 785K of 640MB (<1%)> Acesso em: 29 fev. 2004.

WARWICK, R. M.; PRICE, R. (1975). Macrofauna production in an estuarine mud-flat. **J. Mar. Biol. Assoc. U. K.**, United Kingdom, v. 55, p. 1-18.

WHEELER, Q. D. (2008). **The new taxonomy**. The Systematics Association. 237P.

WESTHEIDE, W.; SCHMIDT, H. (2003). Cosmopolitan versus cryptic meiofaunal polychaeta species: an approach to a molecular. **Helgol. Mar. Res.**, Heidelberg, v. 57, p.1-6.

WILSON, R. S. (2000). Family Nereididae. In: BEESLEY, P. L., ROSS, G. J. B.; GLASBY, C. J. (Eds) **Polychaetes & allies: the southern synthesis**: Fauna of Australia. v. 4a, Polychaeta, Mizostomida, Pogonophora, Echiura, Sipuncula. Melbourne: CSIRO. p. 138-141.

WORSAAE, K. (2001). The systematic significance of palp morphology in the *Polydora* complex (Polychaeta: Spionidae). **Zool. Anz.**, Denmark, v. 240, p.47-59.

ANEXO

ANEXO I- Resultados da ANOSIM (R Global = 0,17, Significância global = 0,1%, número de permutações = 999) do comprimento das estruturas dos parapódios de 15 diferentes populações de *Laonereis*.

Populações	R estatístico	Nível de significância	Permutações populações
Setor_1(PR), Setor_2(PR)	0,016	40,5	126
Setor_1(PR), Alagoas	0,27	5,2	3003
Setor_1(PR), Maranhão	-0,289	99,7	3003
Setor_1(PR), Mar del Plata(ARG)	0,084	19,8	126
Setor_1(PR), Puerto Madryn(ARG)	0,012	33,3	126
Setor_1(PR), Rio Grande do Sul	-0,002	44,2	3003
Setor_1(PR), Pará	0,589	0,4	462
Setor_1(PR), Amapá	0,563	1,6	126
Setor_1(PR), Bahia	0,28	3,3	3003
Setor_1(PR), Saquarema(RJ)	-0,035	54,5	462
Setor_1(PR), Duque de Caxias(RJ)	0,288	5,6	126
Setor_1(PR), Pernambuco	-0,188	95,4	3003
Setor_1(PR), Connecticut_1	-0,116	90,5	126
Setor_1(PR), Connecticut_2	0,072	23	126
Setor_2(PR), Alagoas	0,233	6,1	3003
Setor_2(PR), Maranhão	-0,051	58,7	3003
Setor_2(PR), Mar del Plata	-0,1	79,4	126
Setor_2(PR), Puerto Madryn	-0,016	61,9	126
Setor_2(PR), Rio Grande do Sul	0,345	2,6	3003
Setor_2(PR), Pará	0,419	0,4	462
Setor_2(PR), Amapá	0,244	3,2	126
Setor_2(PR), Bahia	0,384	2,1	3003
Setor_2(PR), Saquarema(RJ)	-0,013	51,1	462
Setor_2(PR), Duque de Caxias(RJ)	-0,044	52,4	126
Setor_2(PR), Pernambuco	-0,048	58,8	3003
Setor_2(PR), Connecticut_1	-0,016	48,4	126
Setor_2(PR), Connecticut_2	0,088	10,3	126
Alagoas, Maranhão	0,263	0,3	92378
Alagoas, Mar del Plata(ARG)	0,25	7,2	3003
Alagoas, Puerto Madryn(ARG)	0,188	11,8	3003
Alagoas, Rio Grande do Sul	0,308	0,1	92378
Alagoas, Pará	0,75	0,1	8008
Alagoas, Amapá	0,716	0,2	1001
Alagoas, Bahia	0,747	0,1	92378
Alagoas, Saquarema(RJ)	0,188	5,7	8008
Alagoas, Duque de Caxias(RJ)	-0,051	54,8	1001
Alagoas, Pernambuco	0,196	0,4	92378
Alagoas, Connecticut_1	0,2	9,3	3003
Alagoas, Connecticut_2	0,431	1,2	3003
Maranhão, Mar del Plata(ARG)	-0,126	80,4	3003
Maranhão, Puerto Madryn (ARG)	-0,143	86,9	3003
Maranhão, Rio Grande do Sul	0,057	10,3	92378
Maranhão, Pará	0,13	13,3	8008
Maranhão, Amapá	0,035	35,3	1001
Maranhão, Bahia	0,233	0,3	92378
Maranhão, Saquarema(RJ)	-0,054	62,7	8008
Maranhão, Duque de Caxias(RJ)	-0,082	67,8	1001
Maranhão, Pernambuco	-0,036	76,1	92378
Maranhão, Connecticut_1	-0,222	97,3	3003
Maranhão, Connecticut_2	-0,143	84,2	3003

Mar del Plata(ARG),Puerto Madryn(ARG)	0,096	15,1	126
Mar del Plata(ARG),Rio Grande do Sul	0,335	2,3	3003
Mar del Plata(ARG), Pará	0,368	0,6	462
Mar del Plata(ARG), Amapá	0,194	8,7	126
Mar del Plata(ARG), Bahia	0,287	4,7	3003
Mar del Plata(ARG), Saquarema(JR)	-0,053	61	462
Mar del Plata(ARG), Duque de Caxias(JR)	0,056	29,4	126
Mar del Plata(ARG), Pernambuco	0,041	53,5	3003
Mar del Plata(ARG), Connecticut_1	0,024	31,7	126
Mar del Plata(ARG), Connecticut_2	0,074	13,5	126
Puerto Madryn(ARG), Rio Grande do Sul	0,063	27,3	3003
Puerto Madryn(ARG), Pará	0,571	0,2	462
Puerto Madryn(ARG), Amapá	0,506	0,8	126
Puerto Madryn(ARG), Bahia	0,508	0,4	3003
Puerto Madryn(ARG), Saquarema (RJ)	-0,069	66,9	462
Puerto Madryn(ARG), Duque de Caxias(RJ)	0,063	27,8	126
Puerto Madryn(ARG), Pernambuco	-0,111	78,2	3003
Puerto Madryn(ARG), Connecticut_1	-0,036	63,5	126
Puerto Madryn(ARG), Connecticut_2	0,256	3,2	126
Rio Grande do Sul, Pará	0,723	0,1	8008
Rio Grande do Sul, Amapá	0,758	0,1	1001
Rio Grande do Sul, Bahia	0,54	0,1	92378
Rio Grande do Sul, Saquarema(RJ)	0,241	4,3	8008
Rio Grande do Sul, Duque de Caxias(RJ)	0,21	13,2	1001
Rio Grande do Sul, Pernambuco	0,075	5,6	92378
Rio Grande do Sul, Connecticut_1	0,123	16,3	3003
Rio Grande do Sul, Connecticut_2	0,285	4	3003
Pará, Amapá	-0,107	76,7	210
Pará, Bahia	-0,084	76,2	8008
Pará, Saquarema(RJ)	0,446	0,2	462
Pará, Duque de Caxias(RJ)	0,849	0,5	210
Pará, Pernambuco	0,136	11,5	8008
Pará, Connecticut_1	0,507	0,4	462
Pará, Connecticut_2	0,36	0,4	462
Amapá, Bahia	-0,142	79,8	1001
Amapá, Saquarema(RJ)	0,29	6,2	210
Amapá, Duque de Caxias (RJ)	0,802	2,9	35
Amapá, Pernambuco	0,045	33,3	1001
Amapá, Connecticut_1	0,381	2,4	126
Amapá, Connecticut_2	0,238	5,6	126
Bahia, Saquarema(JR)	0,423	0,9	8008
Bahia, Duque de Caxias(RJ)	0,715	0,6	1001
Bahia, Pernambuco	0,23	0,1	92378
Bahia, Connecticut_1	0,356	1,6	3003
Bahia, Connecticut_2	0,165	13,6	3003
Saquarema(JR), Duque de Caxias(JR)	-0,06	60,5	210
Saquarema(JR), Pernambuco	0,024	35,5	8008
Saquarema(JR), Connecticut_1	-0,123	93,9	462
Saquarema(RJ), Connecticut_2	0,077	17,5	462
Duque de Caxias(RJ), Pernambuco	-0,142	74,1	1001
Duque de Caxias(RJ), Connecticut_1	0,05	30,2	126
Duque de Caxias(RJ), Connecticut_2	0,306	4,8	126
Pernambuco, Connecticut_1	-0,108	74,7	003
Pernambuco, Connecticut_2	-0,054	58,4	3003
Connecticut_1, Connecticut_2	0,028	25,4	126